

CONF.DR.CASIAN HELLENE

GENETICĂ

2010

CUPRINS

DEZVOLTAREA GENETICII CA ȘTIINȚĂ	3
1. 1. OBIECTUL GENETICII	4
1. 2. APARIȚIA ȘI DEZVOLTAREA GENETICII	4
2. EREDITATEA CARACTERELOR ÎN CAZUL MONOHIBRIDĂRII	6
2.1. TIPURI DE RELAȚII INTERALELICE LA MONOHIBRIDARE	7
2.3. ANALIZA CARACTERELOR LA POLIHIBRIDARE	15
2.3.3. INTERACȚIUNI ÎNTRE GENE NEALELE	23
EPISTASIA DE DOMINANȚĂ (12:3:1)	23
EPISTASIA DE RECESIVITATE (9:3:4)	23
EPISTASIA DE DOMINANȚĂ ȘI RECESIVITATE (13:3)	24
MECANISMUL CROMOZOMAL AL EREDITĂȚII	28
1. TEORIA CROMOZOMALĂ A EREDITĂȚII	28
1. 1. ÎNLĂNȚUIREA GENELOR DISPUSE ÎN ACELAȘI CROMOZOM (LINKAGE)	28
1. 2. SCHIMBUL RECIPROC DE GENE (CROSSING- OVER-UL)	30
1.2.1. FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ	33
CROSSING - OVER-UL	33
2. ALCĂTUIREA HĂRȚILOR CROMOZOMALE	36
GENETICA CANTITATIVĂ	38
1. DETERMINISMUL GENETIC AL CARACTERELOR CANTITATIVE	38
2. SISTEME DE GENE MULTIPLE	41
2. 1. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE EGALE ȘI ADITIVE (MODELE POLIMERICE).	41
2. 2. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE INEGALE ȘI ADITIVE (MODELE ANISOMERICE).	42
2. 3. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE OPOZITIONALE	42
3. CONSANGVINIZAREA	43
3. 1. EFECTELE FENOTIPICE ALE CONSANGVINIZĂRII	43
3.2 EFECTELE GENOTIPICE ALE CONSANGVINIZĂRII	43
4. HETEROZISUL	44
5. HIBRIDAREA TRANSGRESIVĂ (SEGREGAREA SAU VARIAȚIA TRANSGRESIVĂ)	46
DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR	48
2. DETERMINISMUL CROMOZOMIAL AL SEXULUI	48
3. DETERMINISMUL GENOMIAL AL SEXULUI	49
4. DETERMINISMUL GENIC AL SEXULUI	50
5. REGLAJUL GENETIC AL DIFERENȚIERII SEXELOR LA PLANTE	50
6. DETERMINISMUL SEXULUI LA PLANTELE DIOICE	50
7. DETERMINISMUL SEXELOR LA PLANTELE HERMAFRODITE ȘI MONOICE	51
7.1. HORMONII VEGETALI ȘI EXPRESIA SEXULUI	52
8. FACTORI CARE INFLUENȚEAZĂ DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR	52

9. SEX - INFLUENȚARE	55
10. SEX - LIMITARE	56
11. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX (SEX-LINKAGE)	56
11. 1. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX LA TIPUL <i>DROSOPHILA</i>	56
11. 2. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX LA TIPUL ABRAXAS	58
RESTRUCTURĂRI CROMOZOMIALE	
1. TIPURI DE RESTRUCTURĂRI ȘI EXAMINAREA LOR	59
1. 1. SCHIMBĂRI ÎN NUMĂRUL DE GENE	60
1. 2. SCHIMBĂRI ÎN SUCCESIUNEA GENELOR	62
VARIABILITATEA NUMĂRULUI DE CROMOZOMI	
1. TIPURI DE MUTAȚII ALE NUMĂRULUI DE CROMOZOMI	66
1. 1. EUPLOIDIA	66
1. 2. ANEUPLOIDIA	73
BAZELE BIOCHIMICE ALE EREDITĂȚII	
1. IDENTIFICAREA MATERIALULUI GENETIC	79
2. ADN - MATERIAL GENETIC LA PROCARIOTE ȘI EUCARIOTE	79
3. ARN – MATERIAL GENETIC LA RIBOVIRUSURI ȘI VIROIZI	81
4. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A ACIZILOR NUCLEICI	81
5. STRUCTURA FIZICĂ A ACIZILOR NUCLEICI	83
6. 1. ETAPELE PROCESULUI DE SINTEZĂ ADN	87
7. REPLICAȚIA ADN LA PROCARIOTE ȘI EUCARIOTE	89
8. CODUL GENETIC ȘI CARACTERISTICILE SALE	90
SINTEZA PROTEICĂ	92
1. ROLUL GENETIC AL ACIZILOR NUCLEICI	92
2. TRANSCRIȚIA ȘI TIPURILE DE ARN	93
3. TRANSLAȚIA	96
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	
99	

CAPITOLUL I

DEZVOLTAREA GENETICII CA ȘTIINȚĂ

1. 1. OBIECTUL GENETICII

Genetica este știința care studiază ereditatea și variabilitatea organismelor. Genetica explică mecanismele de înregistrare, de modificare și de transmitere a informației ereditare din generație în generație, precum și procesul interacțiunii genotipului cu mediul.

Denumirea de genetică provine de la cuvântul grecesc *gennaō* care înseamnă „a da naștere, a genera „. Termenul de genetică a fost introdus în biologie în anul 1906 de către W. Bateson la Conferința a III-a internațională de hibridare și ameliorare a plantelor de la Londra.

Ereditatea (*hereditas* – a moșteni, lat.) este proprietatea organismelor de a da naștere unor descendenți asemănători lor. Mai poate fi definită ca fenomenul transmiterii din generație în generație a caracterelor sau procesul transmiterii informației genetice de la părinți la urmași. Unitatea elementară care condiționează transmiterea și manifestarea caracterelor a fost numită *genă* în anul 1906 de către geneticianul danez W. Johanssen. Alături de genele care se află în cromozomi și determină *ereditatea cromozomală*, există și unități ereditare situate la nivelul citoplasmei, denumite *plasmagene*, care determină *ereditatea citoplasmatică*. Totalitatea factorilor ereditari ai unui organism poartă numele de *genotip*.

Genele și plasmagenele au o mare stabilitate și sunt capabile să se autoreproducă fidel (funcția autocatalitică a genei). În acest sens ereditatea constituie elementul conservativ al lumii vii.

Dacă se compară descendenții din cadrul unei rase, soi etc, se constată unele deosebiri între indivizi, dar și față de părinți. În natură nu există doi indivizi identici, unicitatea fiind o caracteristică de bază a lumii vii. Aceasta înseamnă că organismele prezintă *variabilitate*.

Variabilitatea reprezintă proprietatea organismelor vii, cu diferite grade de înrudire, de a se deosebi între ele în plan morfologic, fiziologic, biochimic etc. Diferențele între indivizi pot fi determinate de mutații și recombinări ale materialului genetic (variabilitate ereditară) și de influența condițiilor de mediu (variabilitate neereditară). Totalitatea însușirilor morfologice, fiziologice, biochimice și de comportament ale unui organism poartă numele de *fenotip*.

1. 2. APARIȚIA ȘI DEZVOLTAREA GENETICII

Deși genetica ca știință a apărut la începutul secolului al XX-lea, fenomenele ereditare au constituit una din preocupările vechi și permanente ale omului.

În unele scrieri și desene ale popoarelor antice (egipteni, indieni, asirieni, greci, romani etc) se găsesc indicații cu privire la selecția plantelor și animalelor. O dovadă a acestor preocupări o reprezintă sculpturile egiptene vechi de 6000 de ani, în care sunt prezentate pedigreeele mai multor generații de cai, cu indicații referitoare la modul cum se transmit la urmași forma capului și a copitei.

În secolul XIX se intensifică interesul pentru ereditate și începe elaborarea de teorii corpusculare. Una dintre primele teorii corpusculare a fost elaborată de Ch.Darwin în 1868 sub denumirea de *teoria pangenezei*. Conform acesteia, moștenirea caracterelor se realizează prin intermediul unor particule denumite *gemule*, care migrează din toate părțile organismului și pe care sângele le transportă în celulele sexuale, ele transmițându-se în urma fecundării la urmași. Această concepție este o reînnoire a teoriei panspermiei enunțate de Hippocrates.

Apogeul teoriilor corpusculare îl reprezintă *teoria plasmei germinative*, elaborată de August Weismann în perioada 1875 – 1876 și definitivată în 1902. Această teorie susține că organismul este format din două părți deosebite calitativ : *soma* sau corpul și substanța ereditară denumită *germoplasmă* sau *plasma germinativă*. Ea reprezintă substratul care prin intermediul celulelor sexuale asigură transmiterea ereditară a caracterelor.

Biologul și matematicianul Gregor Mendel este considerat fondatorul și părintele geneticii. El a efectuat cercetări bazate pe hibridări experimentale la mai multe specii : mazăre, porumb, fasole etc. Ca urmare a elaborat *teoria factorilor ereditari* conform căreia fiecare caracter al organismului este determinat de o anumită particulă materială denumită factor ereditar (genă), localizată în nucleu și care se transmite la urmași prin intermediul gameților (celulelor sexuale). Modul de manifestare al caracterelor în generațiile F1, F2 și în generațiile următoare, l-au determinat pe Mendel să emită concluzii universal valabile, ulterior au fost ridicate la rangul de *legi ale eredității*.

Apariția geneticii ca știință este determinată de trei biologi și anume Hugo de Vries (1848 – 1935), Carl Correns (1864 – 1933) și Erich Tschermak (1871 – 1962), care în anul 1900, au redescoperit independent concluziile lui Gregor Mendel.

Contribuții semnificative la dezvoltarea geneticii au avut experiențele lui Thomas Hunt Morgan și colaboratorilor lui, care au efectuat cercetări la *Drosophila melanogaster* și au emis trei teze : *plasarea liniară a genelor pe cromozomi; fenomenul de linkage complet și fenomenul de linkage incomplet*.

În dezvoltarea geneticii moderne, rolul hotărâtor l-au avut cercetătorii americani O.T.Avery, C.M.MacLeod și M.McCarty care descoperă rolul genetic al acidului dezoxiribonucleic (ADN) din cromozomi, explicând astfel fenomenul de transformare genetică la bacterii sesizat de F.Griffith (1928).

În 1953, J.D.Watson, F.H.C.Crick și M.H.F.Wilkins stabilesc modelul de alcătuire al ADN-ului, ceea ce a dus la impulsivitatea cercetărilor privind acizii nucleici.

Mai târziu rezultatele se succed rapid, astfel s-a descoperit rolul și structura ARN-ului, existența unui limbaj genetic – codul genetic, structura genelor, sinteza proteinelor și reglajul genetic al sintezei proteice etc.

După anul 1970 s-au dezvoltat considerabil cercetările de *inginerie genetică*. Acest nou domeniu a dus la : izolarea și sinteza artificială a genelor, transferul intra- și interspecific al genelor, uneori chiar de la organisme procariote la cele eucariote și viceversa, manipularea materialului genetic la nivel celular prin realizarea de haploizi prin androgeneză și ginogeneză experimentală la plante, hibridarea între celule vegetale și animale, alcătuirea hărților genetice la mai multe specii inclusiv pentru om (2005) etc.

Ingineria genetică are implicații profunde de ordin fundamental și aplicativ, mai ales în crearea de noi forme vegetale și animale de importanță economică, în realizarea de microorganisme capabile să sintetizeze aminoacizi, proteine, hormoni, vitamine, antibiotice etc, în realizarea terapiei genice cu importanță în medicina umană și veterinară.

Putem concluda pe baza celor prezentate marea importanță a geneticii și faptul că genetica devine o necesitate nu doar pentru specialiștii din domeniul biologiei, agriculturii, medicinei.

CAPITOLUL II.

EREDITATEA CARACTERELOR CALITATIVE

1 EREDITATEA MENDELIANA

După cum este bine știut, multă vreme a persistat teoria moștenirii directe a caracterelor, care a avut adepți și susținători până la sfârșitul secolului al XIX – lea. În plus, ea a fost modificată și adaptată la unele teorii corpusculare ale eredității, în sensul că toate particulele materiale din diferite părți ale organismului migrează în gameți prin care apoi, se transmit la urmași.

Deși hibridarea se practică de foarte multă vreme (practic odată cu introducerea în cultură a plantelor), iar cercetările de hibridare dirijată la numeroase specii s-au înmulțit în secolele al XVIII – lea și al XIX – lea, nu s-a reușit schimbarea profundă a concepțiilor despre ereditate. Uneori, cercetătorii au efectuat hibridări chiar la mazăre cu mult timp înaintea lui Mendel, dar nu au putut explica și interpreta rezultatele experiențelor, rezumându-se la simple constatări.

Primele experimente de hibridare la diferite specii de plante au fost începute de Mendel în anul 1857, în grădina mănăstirii din Brunn (astăzi Brno din Slovacia). Astfel, el a efectuat încrucișări la numeroase specii de plante ca: *Pisum*, *Phaseolus*, *Zea*, *Anthirrhinum*, *Melandrium*, *Ipomoea*, *Verbascum*, *Hieracium*, etc., preferând în mod deosebit mazărea care oferă o serie de avantaje. În 1865 prezintă rezultatele experimentale și concluziile la care a ajuns, la două conferințe ale Societății de Istorie Naturală din Brunn. Comunicările au fost publicate într-o lucrare de 48 pagini în anul 1866 în analele societății, sub titlul: “Versuche uber Pflanzenhybriden” (“Cercetările privind hibridarea plantelor”).



Gregor Mendel 1822-1886

Deși rezultatele cercetărilor lui G. Mendel au fost publicate într-o revistă de prestigiu și de mare circulație, nu au produs senzație în lumea biologilor de atunci, care pe de o parte nu au putut sesiza esența și importanța descoperirilor, iar pe de altă parte Mendel era considerat un cercetător amator. Astfel, concluziile lui Mendel au rămas nerecunoscute până în anul 1900, când au fost descoperite și ridicate la rangul de legi ale eredității, moment care marchează apariția **geneticii** ca știință.

În concepția geneticii clasice **caracterele mendeliene** (calitative) sunt acelea care prezintă fenotipuri distincte (contrastante) și sunt controlate de **gene majore** (mendeliene) după regula “**o genă – un caracter**” (condiționare monogenică). Unele gene majore au efecte **pleiotropice**, adică o genă controlează simultan mai multe caractere calitative, ceea ce reprezintă, evident, o abatere de la regula generală amintită mai sus.

În F_1 toate plantele hibride sunt uniforme, având același fenotip. În F_2 , caracterele calitative segregă în clase discontinue, cu fenotipuri distincte și ușor detectabile, datorate ambelor alele. Marea majoritate a caracterelor calitative au eritabilitatea mare, fiind puțin influențate de mediu. Aceasta conferă selecției posibilități mari în detectarea indivizilor cu caractere dorite.

2. EREDITATEA CARACTERELOR ÎN CAZUL MONOhibridării

În studiul eredității și variabilității se folosește pe scară largă **metoda hibridologică**. Această metodă a permis lui Gregor Mendel să formuleze principalele legi ale eredității și să pună bazele geneticii, ca știință biologică.

În cercetările sale, Mendel a folosit cu precădere mazărea, plantă anuală care oferă numeroase avantaje pentru studiul eredității și variabilității caracterelor calitative:

- având flori hermafrodite cu polenizare strict autogamă (cleistogamă), mazărea s-a dovedit un “obiect” potrivit pentru analizele genetice, folosind la încrucișare forme pure din punct de vedere genetic;
- fiind o plantă anuală se pot urmări relativ repede descendențele în generații succesive;
- structura morfo – anatomică a florii permite realizarea cu destulă ușurință a hibridării sexuale;
- mazărea are numeroase soiuri (varietăți care se deosebesc prin unul sau mai multe caractere contrastante).

Mendel a folosit pentru încrucișare 22 de soiuri pure (din cele 34 luate în studiu), la care s-au luat în considerare 7 caractere alelomorfe (forma bobului, culoarea bobului, forma păstăii uscate, culoarea păstăii necoapte, culoarea cotiledoanelor, poziția florilor pe plantă și lungimea tulpinii).

Înainte de a descifra determinismul genetic al caracterelor și mecanismele de transmitere ale acestora la urmași, considerăm că este util să definim, câțiva termeni de bază, folosiți frecvent în explorarea acestor fenomene.

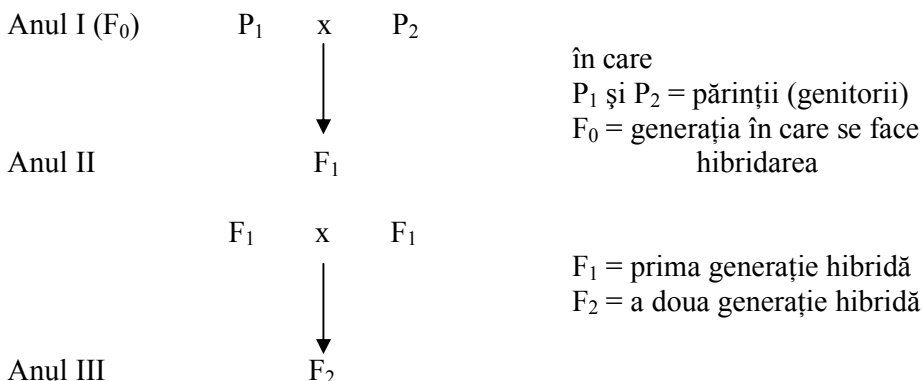
Hibridarea reprezintă metoda care permite obținerea de plante hibride (hibrizi). Ea constă în principal, în două operații: **castrarea** formei mamă și **polenizarea** cu polen de la forma tată.

Hibridul reprezintă un organism rezultat prin hibridarea (încrucișarea) a doi sau mai mulți genitori (părinți) diferiți prin anumite caractere. Hibridul întrunește caractere de la părinți folosiți la

încrucișare. Părintele mamă se notează cu ♀, iar părintele tată cu ♂. Părinții se notează cu P₁ și, respectiv P₂, iar generațiile hibride (filiațiile) cu F₀, F₁, F₂,....., F_n.

Încrucișarea unor forme parentale care se deosebesc printr-o singură pereche de caractere se numește **monohibridare**, iar încrucișarea unor indivizi care se deosebesc prin două sau mai multe perechi de caractere se numește **dihibridare** și, respectiv, **polihibridare**

Schematic, realizarea unei hibridări sexuale se prezintă astfel:



Mendel a observat că majoritatea caracterelor studiate la soiurile de mază au două forme distincte de manifestare, adică opuse sau contrastante. Aceste forme de manifestare alternativă ale aceluiași caracter au fost denumite ulterior **alele**. Unele caractere prezintă mai mult de două forme alternative de manifestare, reprezentând fenomenul de **allelism multiplu**. La organismele diploide există pentru fiecare caracter (factor ereditar) două alele, care pot fi de același fel și indivizii sunt puri sau pot fi diferite și indivizii sunt impuri. În acest caz, la indivizii impuri (heterozigoți) între cele două alele pot apare diferite relații, atât între alelele mutante din cadrul unei serii de alele multiple. Mai jos, prezentăm principalele relații alelice în cazul monohibridării, unele dintre ele, fiind observate și explicate de Mendel.

2.1. TIPURI DE RELĂȚII INTERALELICE LA MONOHIBRIDARE

2.1.1 DOMINANȚĂ ȘI RECESIVITATE (DOMINANȚĂ TOTALĂ)

Dacă fenotipul unui heterozigot se datorează numai uneia dintre alele înseamnă că între cele două alele există o relație de dominanță – recesivitate (dominanță totală sau completă). În acest caz hibridul F₁ (Aa) are același fenotip cu părintele homozigot dominant (AA) sau altfel spus, Aa = AA (din punct de vedere fenotipic).

Exemplu: Încrucișând două soiuri pure de mază, unul cu boabe galbene și celălalt cu boabe verzi, Mendel a obținut în F₁ numai plante cu boabe galbene. Acest caracter l-a denumit **dominant**, în timp ce caracterul pereche care nu s-a manifestat l-a denumit **recesiv**.

Cu această ocazie, Mendel a constatat uniformitatea plantelor hibride în F₁.

Prin autopolenizarea plantelor din F₁ a obținut în generația a doua (F₂), atât plante cu boabe galbene, cât și plante cu boabe verzi, în proporție de 3:1. Acest fenomen constatat în F₂ a fost denumit de Mendel **segregare sau disjuncția caracterelor (genelor)**.

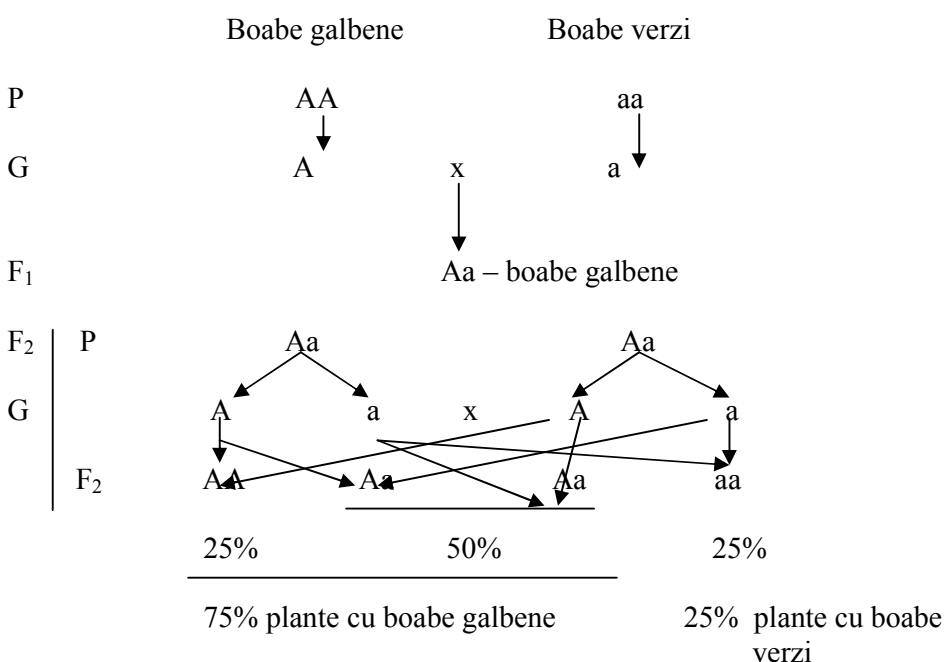
Mendel a explicat segregarea prin prezența sub forma de pereche a fiecărui factor ereditar (genă) în celulele parentale și separarea acestora în timpul meiozei, când fiecare gamet primește numai un singur factor ereditar (gena) din perechea respectivă, întrucât părinții sunt puri, fiecare părinte va produce un singur tip de gameti. Gameții se unesc în timpul fecundării și rezultă plante hibride (F₁) în care factorii ereditari (genele) se alătură din nou în perechi. Când plantele hibride din F₁ formează la randul lor gameți, factorii ereditari se separă din nou, rezultând de data aceasta două tipuri de gameți. Prin unirea la întâmplare a gameților rezultați, dar cu aceeași probabilitate, se obține generația a doua de indivizi (F₂) cu patru combinații de factori, la care se constată segregarea factorilor ereditari în două grupe fenotipice (3:1) și trei grupe genotipice (1:2:1).

Plantele care posedă un singur tip de factori ereditari (alele) sunt pure din punct de vedere genetic și se numesc **homozigote** (AA = homozigote dominante și aa = homozigote recesive). Plantele hibride din F_1 posedă ambii factori ereditari (alele) și se numesc impure sau **heterozigote** (Aa). La plantele heterozigote se manifestă numai caracterul dominant (A), în timp ce caracterul pereche recesiv (a) rămâne în stare ascunsă. În felul acesta, Mendel a definit noțiunea de fenotip, care exprimă însușirile morfologice, fiziologice, biochimice și de comportament ale unui organism (individ) și noțiunea de genotip care reprezintă totalitatea factorilor ereditari (genelor) conținuți de un organism.

Simbolizarea alelelor dominante se poate face cu majusculă (A), care indică inițiala carcterului (așa cum s-a procedat mai sus) sau cu minusculă, indice + (a^+) sau numai cu semnul +.

Alelele recesive se notează de regulă cu minusculă (a) sau după caz, cu semnul “–”.

Fig. 2.1.Schema unei monohibridări pe baza de dominanță și recesivitate



În figura 2.1. se prezintă schematic monohibridarea din exemplul anterior privind încrucișarea dintre mazărea cu boabe galbene și cea cu boabe verzi, între care există relații de dominanță și recesivitate, cunoscută sub denumirea de monohibridarea de tip “Pisum” sau cu dominanță totală. Dacă se notează cu A caracterul dominant (boabe galbene) și cu caracterul recesiv (boabe verzi) în condițiile în care genitorii sunt homoziгоți, atunci schema monohibridării la mazăre pentru toate cele 7 caractere (sub formă de perechi alelomorfe), analizând pe un număr mare de plante comportarea acestora în generația F_1 și F_2 . La toate monohibridările efectuate el a constatat raporturi de segregare fenotipică foarte apropiate de 3:1.

Mai târziu, s-au făcut monohibridări similare și la animale, păsări, etc., rezultând în F_1 indivizi uniformi, iar în F_2 o segregare fenotipică în raportul de 3:1. Astfel, L. Cuenot a încrucișat șoareci cenușii cu șoareci albi, rezultând în F_1 numai șoareci cenușii. Prin încrucișarea șoarecilor cenușii din F_1 , au rezultat în F_2 75% șoareci cenușii și 25% șoareci albi. Rezultatele similare au rezultat la încrucișarea taurinelor fără coarne cu taurine cu coarne. În F_1 toți indivizii sunt fără coarne, iar în F_2 se obțin 3 părți indivizi fără coarne și 1 parte indivizi cu coarne.

Pe baza analizei generației F_1 și, respectiv F_2 , în cazul monohibridării, Mendel a tras două concluzii esențiale, care după redescoperire și verificare au devenit primele două legi ale eredității, și anume:

1. **Legea segregării sau disjuncției genelor în generația a doua (F_2)**

După cum se știe, prin analiza generației F_2 la dihibridare și polihibridare, Mendel a desprins a doua concluzie, care ulterior a devenit a doua lege a eredității, pe care o enunțăm anticipat pentru a sesiza esența mendelismului:

2. Legea combinării libere a genelor sau a segregării independente a caracterelor (apariție la di- și polihibridare a unor combinații noi de gene la descendenții din F_2).

Din schema prezentată rezultă în F_2 două raporturi de segregare, și anume:

- raportul fenotipic de 3:1:
- raportul genotipic de 1 AA : 2 Aa : 1 aa.

Prin autofecundarea generației a doua (F_2) se obține generația F_3 , la care se observă că din plantele pure cu boabe galbene (AA) rezultă numai plante cu boabe galbene, din cele pure cu boabe verzi se obțin numai plante cu boabe verzi și din plante impure cu boabe galbene (Aa) se obțin atât plante cu boabe galbene cât și plante cu boabe verzi în proporție de 3:1.

Întrucât raportul de segregare fenotipic de 3:1, diferă de raportul de segregare genotipic de 1:2:1, rezultă că cele două genotipuri diferite (AA, Aa) determină același fenotip, respectiv culoarea galbenă a boabelor. Fiind cunoscut faptul că transmiterea caracterelor la urmași este determinată de genotip, Mendel a considerat că este necesar să se determine genotipurile la monohibridii cu același fenotip. Astfel, s-au elaborat o serie de metode care permit determinarea genotipului, dintre care prezentăm:

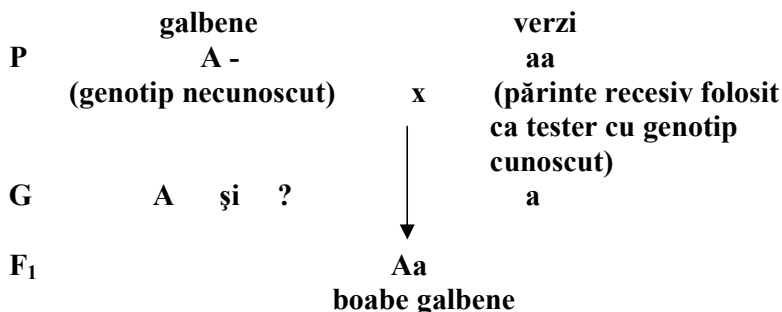
Testcross-ul (încrucișarea analizoare)

Este tipul de încrucișare care permite să se determine genotipul unor indivizi care au același fenotip (în cazul relațiilor de dominanță și recesivitate). Părintele folosit ca tester este întotdeauna homozigot recesiv pentru toate genele studiate.

Un homozigot produce întotdeauna un singur tip de gameți, iar un heterozigot monohibrid produce două tipuri de gameți cu aceeași frecvență.

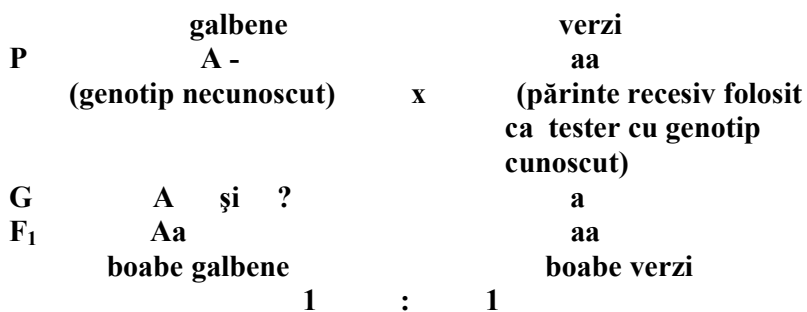
Determinarea structurii genetice a unui monohibrid se face prin analiza descendenței din F_1 (raportul de segregare), care permite să se determine indirect numărul de gameți al individului testat și respectiv, genotipul acestuia.

Exemple: a) O plantă de mazăre cu boabe galbene se încrucișează cu o plantă cu boabe verzi (caracter recesiv) și dă naștere în F_1 la plante cu boabe galbene:



Întrucât a rezultat în F_1 numai un singur fenotip, înseamnă că individul testat produce numai un fel de gameți (A) și este obligatoriu homozigot dominant în caracterul analizat (AA).

b) Considerăm cazul când o plantă cu boabe galbene se testează cu o plantă cu boabe verzi și rezultă plante cu boabe galbene și plante cu boabe verzi în proporție de 1:1 sau 50%:50%.

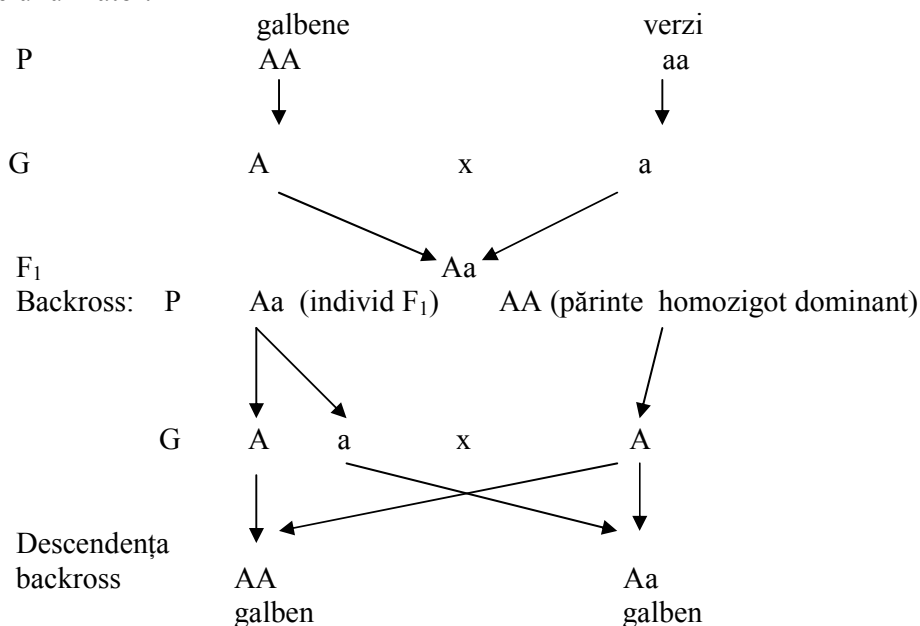


În acest caz individul (planta) testată este heterozigotă (Aa) întrucât în F₁ au rezultat două fenotipuri, indicând faptul că el a produs două tipuri de gameți, respectiv A și a.

Backcross-ul

Încrucișarea unui individ F₁ cu unul din părinți se numește backcross. Uneori în literatura de genetică, backcrossul este utilizat în același sens ca testcross- ul.

Referindu-ne la exemplul de mai sus (folosit la testcross), prezentăm încrucișarea backcross în felul următor:



Backcross-ul poate fi folosit la determinarea unor genotipuri noi în cazul cand părintele dominant (testerul) este sigur homozigot și se face autofecundarea descendenței backcross. În cazul în care nu rezultă segregare, individul cu fenotip dominant testat este homozigot, iar în caz contrar este heterozigot.

2.1.2 SEMIDOMINANȚA (DOMINANȚA INCOMPLETĂ)

Este o relație alelică interalelică în care heterozigotul din F₁ (Aa) are un fenotip intermediar între cei doi părinți heterozigoți. Fiecare alelă este responsabilă de un anumit grad de expresie fenotipică față de cealaltă alelă. Este important de reținut faptul că deși formele heterozigote par să fie un amestec de fenotipuri ale părinților homozigoți, fiecare alelă păstrează identitatea sa și segregă normal în meioză. Cu alte cuvinte, nu este vorba în nici un caz de alele “mixte”.

Simbolizarea în cazul semidominanței se face printr-o literă care indică gena considerată și cu câte un indice pentru fiecare alelă.

Acest tip de monohibridare este cunoscută și sub denumirea de “Zea”, dată fiind descoperirea sa pentru prima dată la porumb.

Exemplu: la încrucișarea unei varietăți de porumb cu boabe albastre ($C^A C^A$) cu o varietate cu boabe galbene ($C^G C^G$) au rezultat în F_1 plante hibride cu boabe violet ($C^A C^G$). În F_2 , s-a produs segregarea în proporție de 1 albastru ($C^A C^A$) : 2 violet ($C^A C^G$) : 1 galben ($C^G C^G$).

Un fenomen similar de semidominanță s-a observat la încrucișarea unor soiuri de gura leului, barba împăratului, etc.

2.1.3. SUPRADOMINANȚA

Este un fenomen de relație interalelică, în care un individ în stare heterozigotă (Aa) determină o sporire sau o intensificare a fenotipului față de indivizii homozigoți de tip parental ($Aa > AA > aa$). Acest fenomen este mai pregnant în cazul unor caractere cantitative ca: talia, fertilitatea, vigoarea, etc, având importanță în apariția heterozisului.

2.1.4 CODOMINANȚA

Studiul sistemului sangvin la om a permis să se determine patru grupe de sânge notate cu A, B, AB și 0, controlate genetic de locusul I cu trei alele multiple, și anume: I^A (alela pentru producerea aglutinogenului A), I^B (alela pentru aglutinogenul B) și I^0 (alela pentru lipsa aglutinogenilor). Pentru grupa A s-au pus în evidență încă două subgrupe mai importnate A_1 și A_2 (Levine 1945).

Alelele I^A și I^B sunt dominate asupra alelei I^0 , iar când se găsesc împreună la același individ sunt **codominante**, determinând un fenotip nou și, respectiv grupa sangvină AB. Ca urmare, indivizii pot fi fenotipic și genotipic de următoarele tipuri (facând abstracție de cele 2 subgrupe ale grupei A):

Grupa sangvină (fenotipul)	Genotipul
A	$I^A I^A$ sau $I^A I^0$
B	$I^B I^B$ sau $I^B I^0$
AB (codominanta)	$I^A I^B$
0	$I^0 I^0$

Cunoașterea acestor relații alelice este necesară pentru realizarea transfuziilor de sânge (persoanele cu grupa 0 sunt donatori universali, iar persoanele cu grupa AB sunt primitori universali; persoanele cu grupa sangvină A primesc sange de la A și 0, persoanele cu grupa sangvină B de la B și 0, iar 0 numai de la 0) și în stabilirea paternității în cazuri de litigii. Cunoșcând grupa sangvină a copilului și a mamei se pot cunoaște grupele sangvine ale tatălui prezumtiv.

Exemplu: Când copilul are grupa A și mama 0, tatăl nu poate avea decât grupa A (homozigot sau heterozigot) sau grupa AB.

2.1.5 LETALITATE

Anumite alele nu se manifestă decât prin moartea individului înainte de maturitate în perioada prenatală sau postnatală. Asemenea alele au fost denumite **letală**. O alelă letală dominantă poate determina moartea individului în stare homozigotă (LL) și, uneori chiar în stare heterozigotă (Ll); ea se elimină din populație în momentul când apare în constituția unui individ. O alelă letală recesivă determină moartea individului numai în stare homozigotă (ll). După caz, indivizii heterozigoti sunt în aparență normali sau pot manifesta unele deficiențe, care însă nu le afectează viabilitatea.

Exemple: a) Studiul unor șoareci galbeni a arătat că ei sunt întotdeauna heterozigoți, deoarece la încrucișarea lor rezultă o descendență în proporție de 2 șoareci galbeni : 1 șoarece de altă culoare.

Din segregare, șoarecii galbeni lipsesc, deoarece ei mor încă din stadiul embrionar. Rezultă următoarele genotipuri și fenotipuri:

Genotipul	Fenotipul	Raportul de segregare
LL	galbeni (letal)	2 : 1
2Ll	galbeni (viabili)	
ll	altă culoare (viabili)	

b) Cantitatea de clorofilă la *Anthirrhinum* este controlată de o genă la care alela recesivă este letală. În descendență pot apare următoarele genotipuri și fenotipuri:

Genotipul	Fenotipul	Raportul de segregare
CC	verde (normale)	3 : 0
2Cc	verde deschis (normale)	
cc	albe(letale)	

În acest caz, rezultă practic un raport de segregare de 3:0, în loc de 3:1.

Genele letale pot fi clasificate după diferite criterii, și anume:

a. După celulele în care apar:

- *gametice*, când gameții cu gene letale sunt neviabili;
- *zigotice*, când zigotul cu gene letale este neviabil.

b. După cromozomii în care apar:

- *autozomale*, când se află pe autozomi;
- *heterozomale*, când se află pe cromozomii sexului.

c. După gradul de letalitate (penetrantă) al indivizilor:

- *letale propriu-zise*, când se produce moartea tuturor indivizilor;
- *semiletale*, când circa 50% din indivizi mor;
- *subletale*, când pier circa 30% din indivizi.

Uneori letalitatea poate fi consecința sterilității cel puțin a unuia dintre sexe, când poate duce la dispariția unei specii. Pe această cale, în S.U.A. (Knipling 1958) a sterilizat masculii insectei *Callitroga hominivorax* (ale cărei larve produceau orificii în pielea animalelor și diminuea ritmul de creștere al acestora), prin iradierea masculilor cu doze de 2500 rad. Prin eliberarea repetată a acestora în natură (a acelora care nu și-au pierdut capacitatea de împerechere) în număr mare, s-a eliminat în câteva generații specia respectivă.

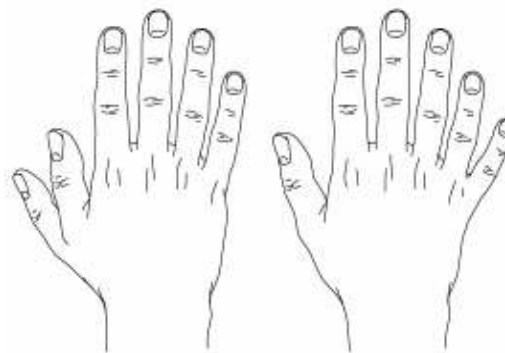
2.2. PENETRANȚĂ ȘI EXPRESIVITATE

În condiții diferite de mediu, doi indivizi cu alele identice pentru același locus pot prezenta fenotipuri diferite. Capacitatea unei gene sau a unui grup de gene de a se exprima fenotipic în condiții determinate de mediu se numește penetrantă, iar gradul de exprimare al fenotipului se numește expresivitate.

Exemple:

a) La om, polidactilia (aparția de degete suplimentare) este determinată de prezența genei dominante P. Pentru fenotipul normal corespunde genotipul pp. Cu toate acestea, indivizii cu genotipul Pp nu prezintă polidactilie. În acest caz, penetranța genei P este mai mică de 100%.

b) Polidactilia se poate exprima numai la maini și nu la picioare. Este vorba de o expresivitate diferită.



Polidactilia la maini

2.3. RELAȚIILE DINTRE GENE ȘI MEDIU

Acestea pot provoca modificări foarte variate atât de ordin calitativ, cât și cantitativ. Diversitatea factorilor de mediu și mai ales intensitatea cu care acționează asupra organismelor în anumite etape ale dezvoltării acestora, pot influența în mod foarte diferit manifestarea unor gene. Cateva exemple în acest sens sunt edificatoare: plantele de *Primula* crescute la temperaturi de 30-37 °C și umiditate mare, produc flori albe, iar la temperaturi sub 30 °C produc flori roșii; plantele mutante de porumb cu port pitic tratate cu hormoni (gibereline) se dezvoltă normal și au talie înaltă; iepurele de Himalaia crescut la temperaturi de peste 30 °C devine complet alb, iar la temperaturi de 24-26 °C capătă culoarea neagră la extremitatea cozii, picioarelor, urechilor și botului.

Unele gene au manifestare foarte diferită la factorii de mediu, fiind afectați numai o parte din indivizi, deși au același fenotip.

O serie de gene sub influența unor factori de mediu manifestă fenotipuri similare altor gene, denumite **fenocopii**.

2.4 SISTEME PLURIALELE (ALELE MULTIPLE)

Pentru o genă sunt posibile, în mod teoretic, un număr relativ mare de alele. Atunci când la același locus sunt identificate mai mult de două alele este vorba de o serie de alele multiple sau de o serie plurialelica. Nu trebuie omis faptul că un individ normal nu poate avea mai mult de două alele diferite sau de același fel pentru o anumită genă sau locus (câte una pe fiecare cromozom homolog).

Între alelele unei gene pot exista relații de dominanță completă, semidominanță sau codominanță. Cele mai frecvente sunt relațiile alelice de dominanță și recesivitate.

Pentru simbolizarea alelelor multiple trebuie mai întâi cunoscută ierarhia de dominanță. Alela dominantă din cadrul seriei este notată cu majusculă, în timp ce alelele recesive sunt notate cu aceeași literă, dar este minusculă, însoțită de diferiți indici.

Exemple:

a) *culoarea ochilor la Drosophila* este guvernată de o serie de alele multiple, variind de la roșu (tipul sălbatic, notat cu w^+ sau W) până la alb (tipul mutant fără pigment, notat cu w). În cadrul seriei plurialelice, fiecare alelă (cu excepția lui w) produce pigment, însă din ce în ce mai puțin pe măsură ce se avansează către alela complet recesivă (w) față de toate celelalte. Ierarhia de dominanță este următoarea: $w^+ > w^{co} > w^{bl} > w^e > w^{ch} > w^a > w^h > w^{bh} > w^t > w^p > w^i > w$. Alela de tip sălbatic w^+ este dominantă față de toate celelalte alele ale seriei, iar alela w este recesivă față de toate celelalte alele din serie. Genotipurile heterozigote între diferitele alele recesive prezintă fenotipuri intermediare.

b) *Tipurile de grupe sanguine la om* este un exemplu clasic de alelism multiplu. Alela I^A este codominată cu alela I^B , iar alela I^0 este recesivă față de acestea. Relațiile între aceste alele se notează astfel: $(I^A = I^B) > I^0$.

c) *Seria de alele multiple „albino” la iepuri*, la care blana prezintă următoarele culori: c^+c^+ = agouti – tipul sălbatic -, $c^{ch}c^{ch}$ = gri – tipul Chinchilla -, c^hc^h = albă cu extremitățile de culoare neagră – tipul Himalaia și cc = albă – tipul albino.

La încrucișarea tipului sălbatic c^+c^+ cu toate celelalte tipuri ($c^{ch}c^{ch}$, c^hc^h , cc) în F_1 s-a manifestat culoarea agouti (brună) a tipului sălbatic, iar în F_2 s-a obținut un raport de segregare de 3:1 în toate cazurile. Aceasta demonstrează că este vorba de alele ale aceluiași locus și că între ele există relația de dominanță – recesivitate. Pe baza încrucișărilor între diferitele tipuri de alele s-a stabilit următoarea ierarhie de dominanță: $c^+c^+ > c^{ch}c^{ch} > cc$.

d) *seria de alele multiple „agouti”*. La mamiferele rozătoare culoarea părului prezintă o serie de 5 alele, dintre care 2 alele sunt dominante față de tipul sălbatic “agouti”, iar două alele sunt recesive. Prin mutații succesive ale locusului a^+ (agouti) au aparut 4 alele simbolizate astfel: A^Y = galben, care în stare homozigotă este letală, A^L = agouti cu abdomen alb, a^t = negru pe spate și bronzat pe abdomen și a = negru. Pe bază încrucișărilor între diferitele tipuri de alele s-au stabilit următoarele ierarhii de dominanță – recesivitate: $A^L > a^+ > a^t > a$; $a^+ > a^t > a$, iar A^Y este dominantă față de toate alelele. Deoarece alela A^Y este vizibilă numai în stare heterozigotă, la încrucișarea cu orice tip de alela în stare homozigotă, rezultă în F_1 un raport de segregare de 1:1, la încrucișările între heterozigoții care conțin alela A^Y rezultă în F_1 , un raport fenotipic de 2:1, deoarece homozigoții de A^YA^Y sunt letali.

e) *Serii de alele multiple la plante*. La numeroase specii de plante pentru anumite caractere sunt implicate serii de alele multiple. Astfel, la trifoiul alb la locusul v (alele inițială, recesivă) există 8 alele dominante care produc pete albe pe frunze de diferite forme și mărimi. La porumb, s-a identificat la locusul R o serie de peste 12 alele, atât dominante, cât și recesive, care controlează pigmentația pericarpului și aleuronei.

2.5. MECANISMUL CITOLOGIC AL SEGREGĂRII GENELOR

Gregor Mendel a considerat factorii ereditari particule materiale independente care în celulele mamă (parentale) se găseau sub formă de pereche, iar în gameți cate un singur factor ereditar din perechea inițială, după repartizarea acestora la cei doi poli în timpul meiozei. Segregarea factorilor se realizează odata cu formarea gameților, în combinarea lor în timpul fecundării prin întâlnirea la întâmplare a acestora.

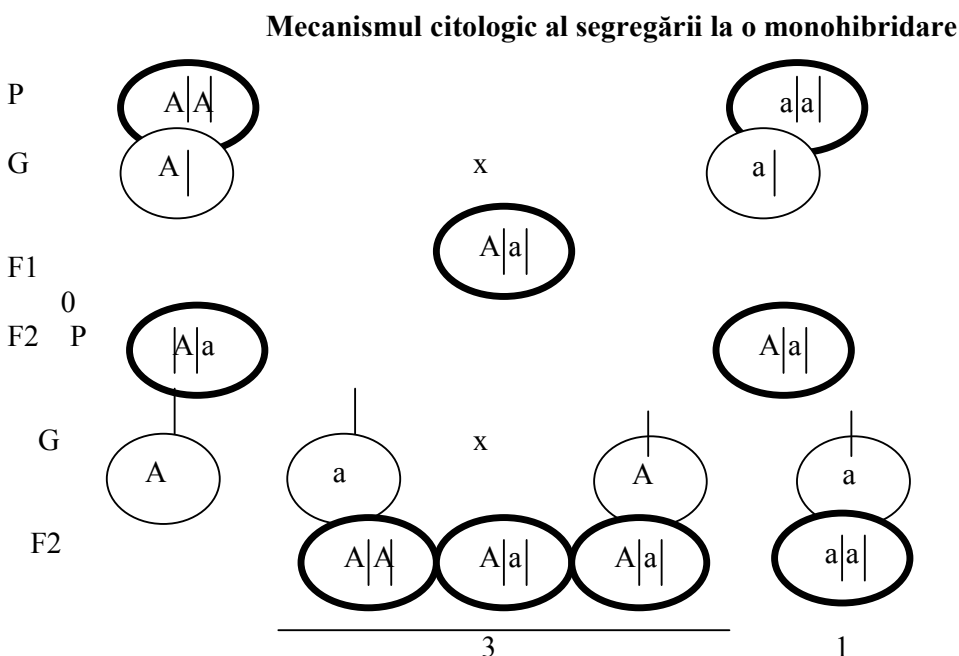
După descoperirea faptului că factorii ereditari (genele) sunt dispuși în cromozomi, cauzele segregării au fost asociate cu separarea și repartizarea cromozomilor în diferite combinații, din celulele mamă ($2n$) în gameți (n) în timpul diviziunii meiotice. Prin fecundarea gameților se reface numărul diploid de cromozomi ($2n$) și respectiv, perechile de cromozomi, dar în combinații diferite datorită asocierii întâmplătoare a cromozomilor cu ocazia migrării lor în gameți (dansul cromozomilor).

În 1902, W. Sutton a afirmat că în fiecare cromozom este localizat un anumit număr de factori ereditari (gene) și că fiecare factor (gena) dintr-un cromozom este independent față de factorii ereditari localizați în ceilalți cromozomi.

Atunci când cei doi părinți prezintă aceeași genă pe același cromozom, în perechea de cromozomi rezultată după fecundare, genele identice vor fi în doza dubla, iar organismul respectiv este homozigot (dominant – AA – sau recesiv – aa), iar când părinții au gene diferite la același cromozom, organismul este heterozigot (Aa). În timpul meiozei (în procesul de formare al gameților) organismul heterozigot va produce gameți diferiți între ei, deoarece într-un gamet (la unii din polii celulei) va trece un cromozom cu gena dominanță, iar în celălalt gamet (la celălalt pol al celulei) va trece celălalt cromozom din pereche cu gena recesivă, devenind astfel independenți atât cromozomii cât și genele localizate pe ei. La o nouă fecundare fiecare cromozom (respectiv gena) din gametul femel se va întâlni fie cu un cromozom identic (cu aceeași genă) fie cu un cromozom diferit (cu altă genă alelă) din gametul mascul. În felul acesta vor apare indivizi diferiți genetic în combinații noi de gene (respectiv de cromozomi), care indică efectul segregării în procesul de

formare al gametilor urmat de fecundare urmat. Modul cum se realizează segregarea cromozomilor și respectiv a genelor (factorilor), localizate pe cromozomi separați este prezentat în figura 2.2

Fig 2. 2



2.3. ANALIZA CARACTERELOR LA POLIHIIBRIDARE

2.3.1. . ANALIZA ÎNCRUCIȘĂRIILOR DIFACTORIALE (DIHIIBRIDARE)

Prin **dihibridare** se înțelege încrucișarea a doi genitori (soiuri, linii, etc.) care se deosebesc prin două perechi de caractere.

Facem precizarea că este vorba de gene independente, situate pe autozomi diferiți (în nici un caz două gene situate pe același cromozom).

Exemplu: Întru-una din experiențele sale la mazăre, Mendel a încrucișat două soiuri pure care se deosebesc prin 2 perechi de caractere, și anume:

- | | | |
|----------------------|----|---------------|
| 1. Culoarea bobului: | AA | - bob galben |
| | aa | - bob verde |
| 2. Forma bobului: | BB | - bob rotund |
| | bb | - bob zbârcit |

Unul din soiuri avea boabe galbene și rotunde (AABB) și celălalt avea boabe verzi și zbârcite (aabb). În F₁ au rezultat plante dihibride cu boabe galbene și rotunde (AaBb).

Prin autofecundarea plantelor F₁ a rezultat în generația a doua (F₂) patru grupe (clase) fenotipice în proporție de 9:3:3:1, adică:

- | | |
|--|-----------------------|
| 9/16 – A . B . – galbene – rotunde (P ₁ – primul părinte) | Combinții noi de gene |
| 3/16 – A . bb – galbene – zbârcite | |
| 3/16 – aa B . – verzi – rotunde (recombinari intercromozomiale) | |
| 1/16 – aa bb – verzi – zbârcite (P ₂ – al doilea părinte) | |

Raportul genotipic a fost în proporție de 4 AaBb : 2 AABb : 2 AaBB : 2 aaBb : 2 Aabb : 1 AABB : 1 aaBB : 1 aabb (4:2:2:2:2:1:1:1:1).

Gregor Mendel explică această segregare prin faptul că plantele dihibride din F₁ formează 4 tipuri de gameți, în care se află câte un singur factor ereditar (respectiv cromozom) din fiecare pereche. În urma fecundării celor 4 tipuri de gameți au rezultat 16 combinații posibile de gene (genotipuri), care au fost grupate în 4 clase fenotipice în proporția amintită de 9:3:3:1 și 9 genotipuri în proporție de 4:2:2:2:2:1:1:1:1. Dintre toate fenotipurile identificate în F₂, Mendel a constatat că în afară de cele două fenotipuri parentale cu boabe galbene și netede (A . B . ce reprezintă P₁) și boabe verzi și zbârcite (aabb, ce reprezintă P₂) au mai apărut în urma combinării libere și întâmplătoare a gameților, respectiv a factorilor ereditari (genelor) două fenotipuri noi, care prezintă un caracter de la un părinte și altul de la celălalt părinte, respectiv plante cu boabe galbene și zbârcite (A . bb) și cu boabe verzi și netede (aa B .).

Pe baza apariției la dihibridare și, ulterior la polihibridare, a unor combinații noi de caractere (gene) datorită independenței și purității gameților, respectiv a genelor situate pe cromozomi separați, Gregor Mendel a formulat a treia și ultima concluzie de bază a cercetărilor sale, care ulterior a fost consfințită ca Legea a II-a a eredității: **Legea combinării libere a genelor (caracterelor) sau segregarea independentă a genelor**, lege pe care am enunțat-o și la monohibridare pentru a fi grupate la un loc toate concluziile și, respectiv legile mendeliene.

Combinații noi de gene, în care se întrunesc caractere de la ambii părinți pot apare și în prima generație la dihibridarea de tip “trans”: Aabb x aaBB, când rezulta indivizi AaBb, cu câte un caracter dominant de la fiecare părinte.

Experiențele de dihibridare la mazăre (de tip “Pisum”) au relevat relația de dominanță-recesivitate la ambii loci. Ulterior, într-o serie de experimente la plante și animale au fost evidențiate și celelalte relații alelice (semidominanța, codominanța, letalitatea, etc.) care au afectat fie un locus, fie ambii loci, determinând modificări profunde ale raportului fenotipic de segregare. Astfel, raportul fenotipic de segregare tipic dihibridării de tip “Pisum” cu dominanța completă la ambii loci, se poate modifica în cazul unor relații alelice de semidominanță, letalitate etc., la unul sau ambii loci:

Relații interalelice		Raport fenotipic de segregare
Locus I	Locus II	
dominant-recesiv	semidominant	3:6:3:1:2:1
semidominant	semidominant	4:2:2:2:2:1:1:1:1
dominant-recesiv	recesiv letal	3:1:6:2
semidominant	recesiv letal	1:2:1:2:4:2
recesiv letal	recesiv letal	4:2:2:1

Metode pentru analiza dihibrizilor

Pentru analiza încrucișărilor difactoriale se folosesc, în general, următoarele metode:

A) Metoda tabeli de combinații (șahul de combinații, după R.C. Punnett)

În metafaza I a meiozei fiecare pereche de cromozomi se separă independent și apoi, migrează la poli (în gameți) în toate combinațiile posibile, la întâmplare și cu aceeași probabilitate (asemuiți cu dansul cromozomilor). În felul acesta rezultă 4 tipuri de gameți femeli și masculi, care în procesul de fecundare vor forma 16 combinații genotipice:

		Gameții maculi			
		AB	Ab	aB	ab
Gameții femeli	AB	AABB galben- rotund	AABb galben- rotund	AaBB galben- rotund	AaBb galben- rotund
	Ab	AABb galben- rotund	Aabb galben- zbârcit	AaBb galben- rotund	Aabb galben- zbârcit
	aB	AaBB galben- rotund	AaBb galben- rotund	aaBB verde- rotund	aaBb verde- rotund
	ab	AaBb galben- rotund	Aabb galben- zbârcit	aaBb verde- rotund	aabb verde- zbârcit

Raport fenotipic de segregare:

9/16 – galben – rotund

3/16 – galben – zbârcit

3/16 – verde – rotund

1/16 – verde – zbârcit

Raport genotipic de segregare:

4/16 – AaBb

2/16 – AABb

2/16 – AaBB

2/16 – aaBb

2/16 – Aabb

1/16 – AABB

1/16 – AaBb

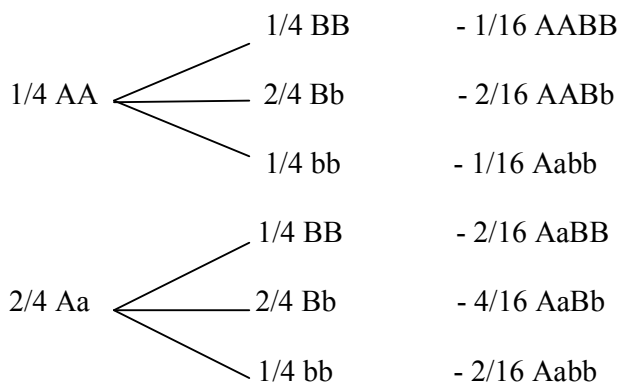
1/16 – aaBB

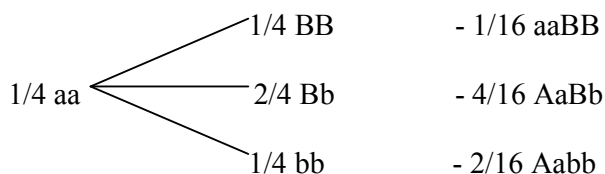
1/16 – aabb

B) Metoda ramificațiilor

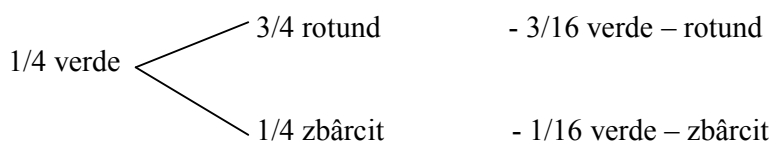
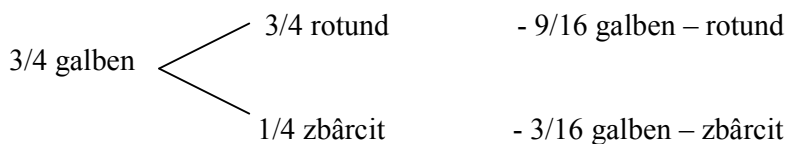
Această metodă este utilizată pentru determinarea tuturor combinațiilor genotipice și fenotipice posibile, fiind o metodă rapidă și simplificată.

a) proporția genotipurilor



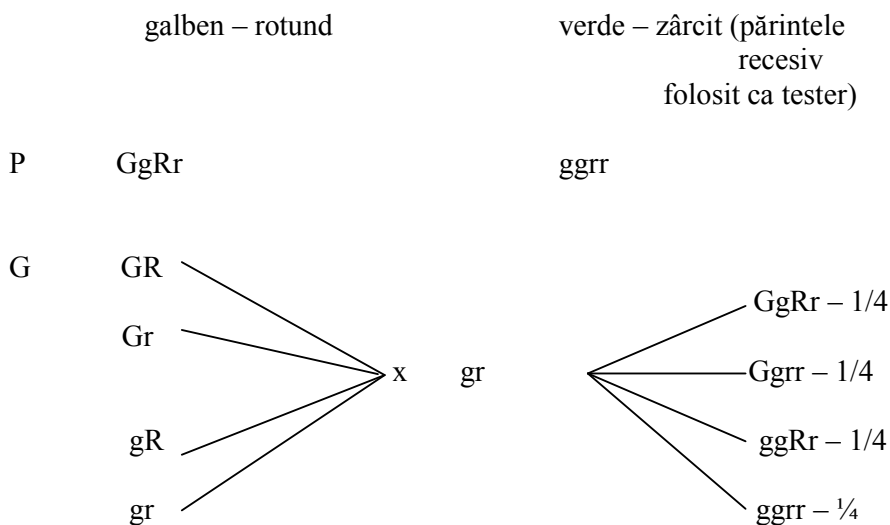


b) proporția fenotipurilor

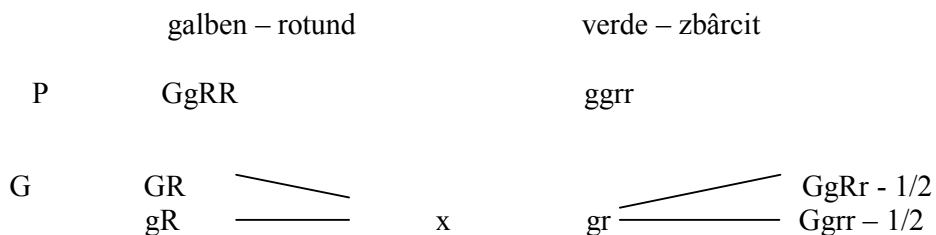


Testarea dihibrizilor cu dominanță completă (toată). Pentru determinarea genotipurilor dihibrizilor cu același fenotip, dar genotipuri diferite, se procedează la încrucișarea fiecărui dihibrid cu părintele dublu recesiv folosit ca tester.

a) În cazul că în F_1 rezultă un raport fenotipic de 1:1:1:1 rezultă că dihibridul testat este heterozigot în ambele perechi de caractere, producând 4 tipuri de gameti:



b) Dacă în F_1 rezultă un raport de segregare fenotipică de 1:1, înseamnă că dihibridul este heterozigot într-o singură pereche de caractere, producând 2 tipuri de gameti:



Raportul fenotipic de segregare indică faptul că a segregat culoarea bobului și deci, acest caracter este heterozigot (gg), în timp ce caracterul forma bobului este homozigot.

	galben – rotund		verde – zbârcit (tester)
P	GGRr		ggrr
G	GR		
	Gr	x	gr
			GgRr – 1/2
			Ggrr – 1/2

În acest caz, forma bobului reprezintă caracterul heterozigot.

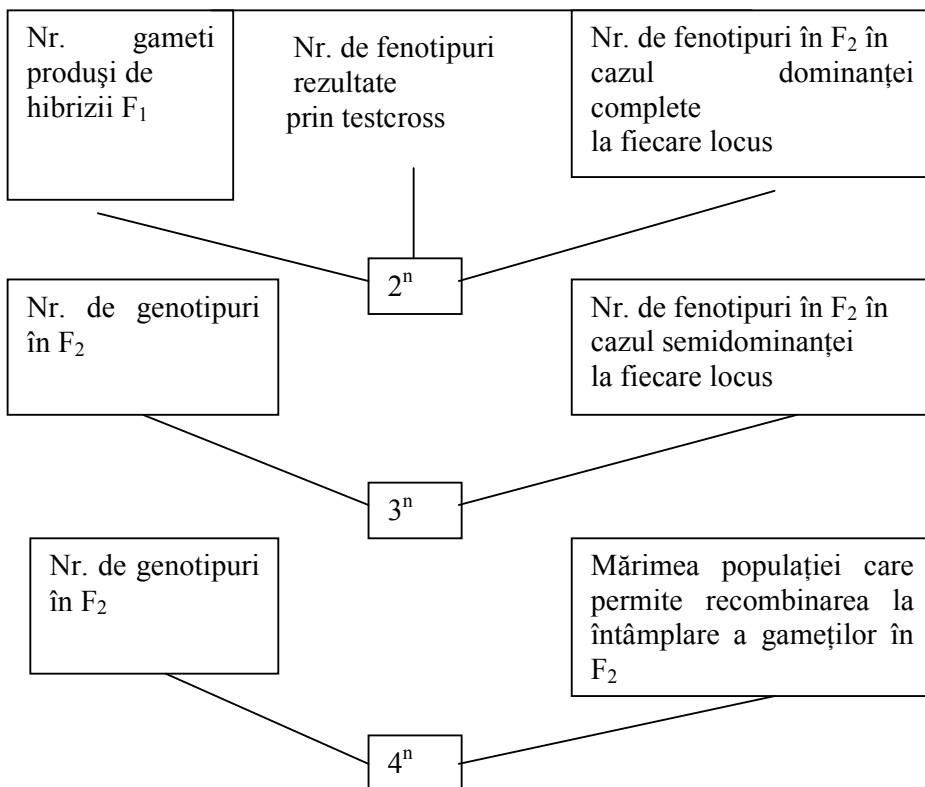
2.3.2. ANALIZA CARACTERELOR LA TRIHIBRIDARE

Trihibridarea reprezintă încrucișarea între doi genitori care se deosebesc prin trei perechi de caractere.

Metodele folosite pentru analiza încrucișărilor difactoriale se pot generaliza și în cazul încrucișărilor cu trei sau mai multe perechi de alele localizate pe autozomi diferiți.

Dacă n reprezintă numărul perechilor de alele heterozigote se pot determina proporțiile fenotipice în funcție de principalele relații alelice.

Segregarea caracterelor cu dominanță și semidominanță (codominanță, supradominanța) în funcție de numărul de alele heterozigote



Astfel, la o trihibridare de tipul AABBCC x aabbcc, se pot folosi aceleași metode de analiză a descendenților, evitând pe cât poate metoda șahului de combinații, care în acest caz devine foarte complicată.

Dupa **metoda șahului de combinații** schema unei trihibridări se prezintă astfel:

P AABbcc x aabbcc
F₁ AaBbCc
F₂ P AaBbCc AaBbCc

Gameteii:

	ABC	ABc	AbC	Abc	aBC	aBc	abC	abc
ABC	64 combinații posibile							
Abc								
AbC								
Abc								
aBC								
aBc								
abC								
abc								

→ Dupa proportiile indicate în tabelul de mai sus, rezultă că:

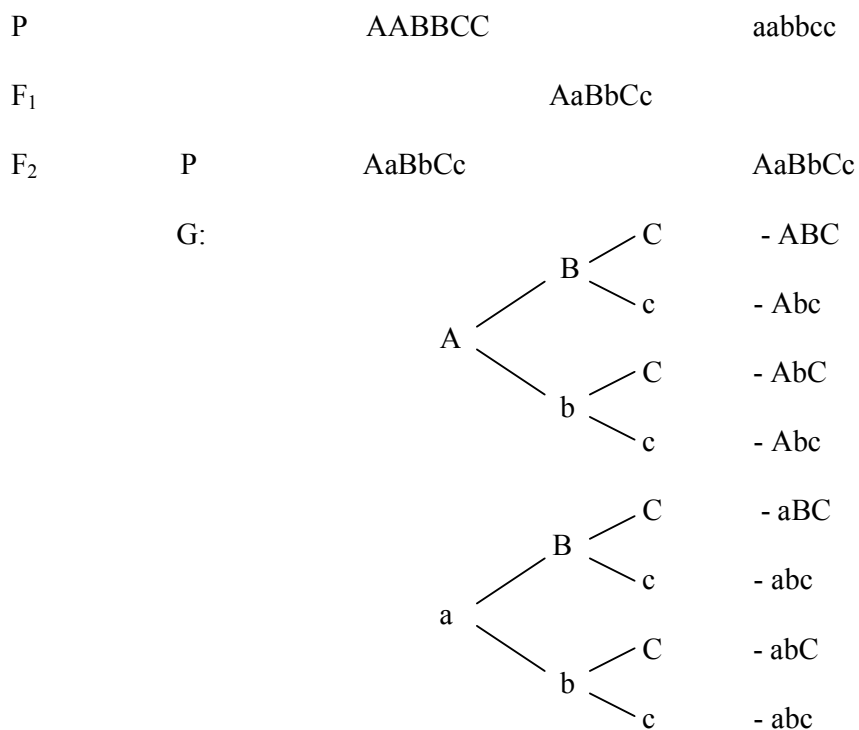
Nr. gameți = 2ⁿ = 2³ = 8
Nr. fenotipuri = 2ⁿ = 2³ = 8
Nr. genotipuri = 3ⁿ = 3³ = 27
Nr.combinații = 4ⁿ = 4³ = 64

Dacă se completează șahul de combinații și se face gruparea combinațiilor pe clase fenotipice, rezultă următorul raport de segregare fenotipică:

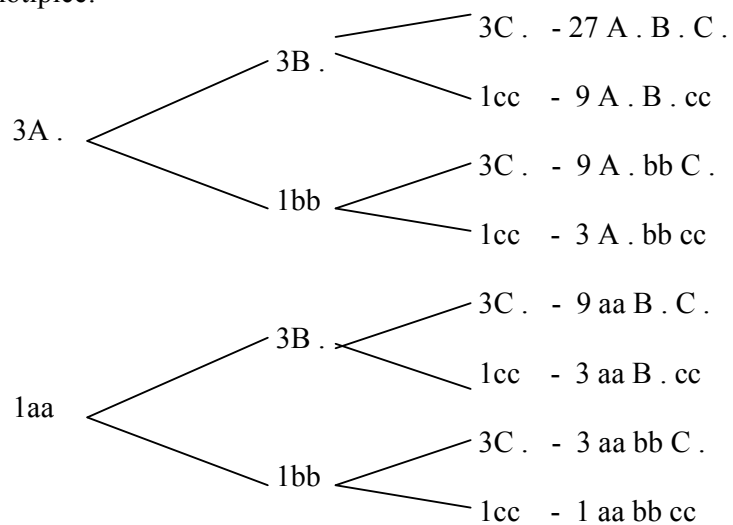
27/64 cu trei caractere dominante (ABC) – părintele 1		combinații noi de gene
9/64 cu două caractere dominante și unul recesiv (Abc)		
9/64 cu două caractere dominante și unul recesiv (AbC)		
9/64 cu două caractere dominante și unul recesiv (aBC)		
3/64 cu un caracter dominant și două recesive (Abc)		
3/64 cu un caracter dominant și două recesive (abC)		
3/64 cu un caracter dominant și două recesive (aBc)		
1/64 cu trei caractere recesive (abc) – părintele 2		

Raportul genotipic de segregare este greu de realizat după această metodă.

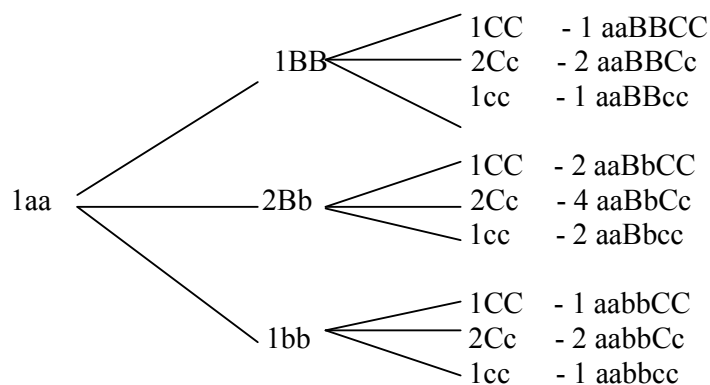
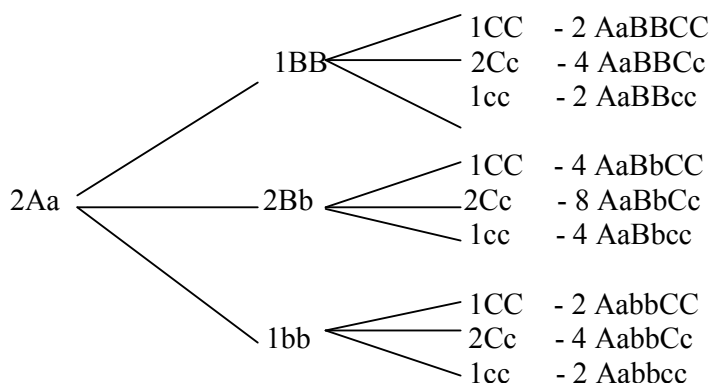
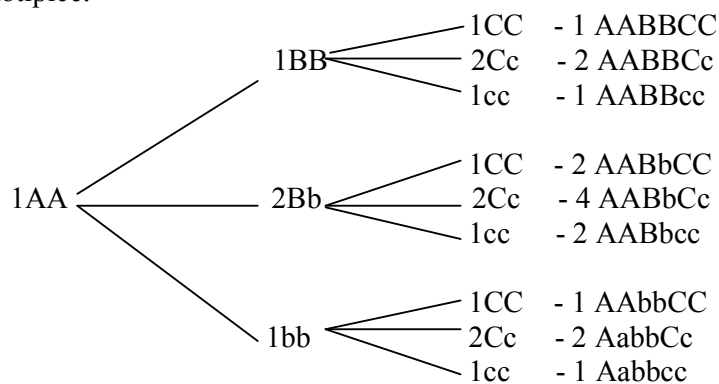
→ După **metoda ramificațiilor** proporția fenotipurilor și genotipurilor este mult mai ușor de realizat:



Combinații fenotipice:



Combinatii genotipice:



Deci, raportul genotipic este următorul: 8:4:4:4:4:4:2:2:2:2:2:2:2:2:2:1:1:1:1:1:1:1:1 = 64

Din studiul raporturilor de segregare se observă că la trihibridare combinațiile noi de gene care rezultă sunt în proporție mult mai ridicată față de dihibridare, întrucat posibilitățile de combinare sunt mai mari, datorită numărului de gene independente implicate. Astfel, dacă la dihibridare proporția combinațiilor noi este de 6/16 (30,7 %), la trihibridare este de 36/64 (56,8 %). Cu cât doi genitori se deosebesc prin mai multe perechi de caractere, cu atât combinațiile noi sunt mai numeroase în defavoarea formelor parentale si variabilitatea organismelor crește.

2.3.3. INTERACȚIUNI ÎNTRE GENE NEALELE

2.3.3.1 INTERACȚIUNI GENICE EPISTATICE

Genele care inhibă acțiunea altor gene (gene nealele) se numesc **epistatice**, iar genele inhibitate se numesc gene **hipostatice**. Pot fi atât alele dominante, cât și cele recesive.

În cazul **epistasiei între doi loci** se obțin întotdeauna mai puțin de 4 fenotipuri în F_2 . Epistasia este, în general, responsabilă de 6 tipuri de segregări în F_2 . Unele dau naștere la 3 fenotipuri, iar altele la câte 2 fenotipuri.

EPISTASIA DE DOMINANȚĂ (12:3:1)

Când alela dominantă a unui locus, de exemplu alela A (responsabilă de un anumit fenotip) inhibă manifestarea fenotipică a alelelor din alt locus B (B sau b) ea se numește **epistasie de dominanță**. Alelele locusului B se manifestă numai la indivizii homozigoți recesivi pentru locusul epistatic (aaBb și aabb). Astfel, indivizii cu genotipul A . B . și A . bb au același fenotip determinat de gena epistatică dominantă A și indivizii aaB . și respectiv aabb (fără alela epistatică dominantă A) vor avea alte două fenotipuri. În F_2 proporția clasică de 9:3:3:1 se modifică și devine 12:3:1.

Exemplu:

La încrucișarea între un soi de ovăz cu glume negre cu un soi cu glume albe s-au obținut în F_1 numai plante negre, iar în F_2 a avut loc segregarea în raportul de 12/6 plante cu glume negre; 3/16 cu glume cenușii : 1/16 plante cu glume albe.

Raportul de segregare din F_2 ne atrage atenția că pentru culoarea glumelor sunt implicate două perechi de gene, iar că gena dominantă pentru culoarea neagră este epistatică față de gena dominantă pentru culoarea cenușie.

Notând cu N – culoarea neagră, C – culoarea cenușie, nn și cc – culoarea albă, dihibridarea de mai sus se prezintă astfel:

P	glume negre <u>NNCC</u>		glume albe nncc
G	NC	x	nc
F_1	NnCc – glume negre		

Din analiza șahului de combinații din F_2 , rezultă că:

<u>N</u> . C .	-9		-12 cu glume negre
<u>N</u> .cc .	-3		
nnC .	-3		-3 cu glume cenușii
nncc	-1		-1 cu glume albe

EPISTASIA DE RECESIVITATE (9:3:4)

Când o genă recesivă homozigotă aa inhibă exprimarea fenotipică a alelelor unui locus B, se consideră că genotipul aa exercită o epistasie recesivă asupra locusului B. Aceasta înseamnă că aa inhibă pe BB, Bb și bb.

Exemplu:

Șoarecii albi sunt din punct de vedere genetic de tip sălbatic (agouti) deoarece conțin gena A, care însă nu se manifestă datorită genei recesive epistatice cc, care inhibă formarea oricărui pigment. Ei au genotipul AAcc sau Aacc.

La încrucișarea unor șoareci albi (AAcc) cu șoareci negri (aaCC) au rezultat în F_1 șoareci de tip sălbatic (agouti), iar în F_2 un raport de segregare de 9 agouti : 3 negri : 4 albi.

	albi		negri
P	<u>AAcc</u>		<u>aaCC</u>
G	<u>Ac</u>	x	<u>aC</u>
F₁	<u>AaCc</u> – agouti (tip sălbatic)		
F₂	9 – agouti (<u>A . C .</u>) 3 – negri (<u>aaC .</u>) 4 – albi (<u>A . cc</u> și <u>aacc</u>)		

Deși este vorba de un singur caracter (culoarea părului), raportul de segregare indică faptul că acest caracter este influențat de o genă epistatică recesivă. Notând cu A – agouti, aa – culoarea albă, C – culoarea neagră, cc – culoarea albă (epistasie).

EPISTASIA DE DOMINANȚĂ ȘI RECESIVITATE (13:3)

În acest caz, o gena dominantă A inhibă o altă genă dominantă B, iar gena recesivă homozigotă bb inhibă gena recesivă homozigotă aa.

Indivizii A.B, A.bb și aabb au același fenotip, iar indivizii aaB au un alt fenotip. Raportul de segregare între cele două fenotipuri este de 13 : 3.

Exemplu:

	Leghorn (albă)		Wyandotte (albă)
P	<u>IICC</u>	x	<u>iicc</u>
F₁	<u>IiCc</u> (albă)		
F₂	9 I.C. 3 I.<u>cc</u> 1 <u>iicc</u> 3 <u>iic</u>.	- albă - albă - albă – neagră	13 albă 3 neagră

Raportul fenotipic este de 13 : 3.

La încrucișarea între rasele de găini albe, Leghorn x Wyandotte, în F₁ rezultă numai găini albe, iar în F₂ segregă în raportul de 13 găini albe : 3 găini negre. Numărul de 16 combinații în F₂ indică prezența a două perechi de gene între care apar interacțiuni epistatice. S-a dedus că rasa Leghorn este genetic de culoare neagră (C .), dar nu se manifestă din cauza unei gene epistatice dominante (I .). Rasa Wyandotte are gena recesivă cc, care la rândul ei inhibă gena ii ce produce culoare. Culoarea neagră apare numai la genotipul iiC.

2.3.4 VERIFICAREA RAPORTURILOR DE SEGREGARE (TESTUL χ^2)

Pentru verificarea unei ipoteze de segregare, trebuie găsită o metodă de calcul care permite estimarea probabilității (P) observării simultane a unei serii de abateri (diferențe) între valorile observate și cele așteptate. Această metodă trebuie să țină cont de numărul de indivizi (descendenți) analizați și de gradul de libertate (GL). Gradul de libertate este egal cu numărul de clase fenotipice (n) minus 1 (GL = n-1). Testul χ^2 este metoda de calcul care permite evaluarea unei asemenea probabilități.

La compararea rezultatelor obținute cu cele așteptate (teoretice) în cadrul unei anumite ipoteze de segregare, se admite în primul rând că ipoteza considerată este justă și că diferența între rezultatele obținute și cele așteptate se datorează numai faptului că numărul de descendenți (indivizi) analizați este limitat.

Testul χ^2 se calculează după formula următoare:

$$\chi^2 = \sum (d^2/t) \quad \text{în care: } d = \text{diferența dintre valorile experimentale și cele teoretice;}$$

$$t = \text{valorile teoretice}$$

În funcție de valoarea lui χ^2 calculată și gradele de libertate se determină probabilitatea P, folosind datele din tabelul de date (după R. A. Fisher și F. Yates).

Tabelul 2.1

Distribuția χ^2 (după Fisher și Yates)

GL	Probabilitatea										
	0,95	0,90	0,80	0,70	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
1	0,004	0,02	0,06	0,15	0,46	1,07	1,64	2,71	3,84	6,64	10,83
2	0,10	0,21	0,45	0,71	1,39	2,41	3,22	4,60	5,99	9,21	13,82
3	0,35	0,58	1,01	1,42	2,37	3,66	4,64	6,25	7,82	11,34	16,27
4	0,71	1,06	1,65	2,20	3,36	4,88	5,99	7,78	9,49	13,28	18,47
5	1,14	1,61	2,34	3,00	4,35	6,06	7,29	9,24	11,07	15,09	20,52
6	1,63	2,20	3,07	3,83	5,35	7,23	8,56	10,64	12,59	16,81	22,46
7	2,17	2,83	3,82	4,67	6,35	8,38	9,80	12,02	14,07	18,48	24,32
8	2,73	3,49	4,59	5,53	7,34	9,52	11,03	13,36	15,51	20,09	26,12
9	3,32	4,17	5,38	6,39	8,34	10,66	12,24	14,68	16,92	21,67	27,88
10	3,94	4,86	6,18	7,27	9,34	11,78	13,44	15,99	18,31	23,21	29,59
Nesemnificativ									Semnificativ		

Probabilitatea poate fi experimentată în procente sau în fracțiuni de unitate. Dacă această probabilitate este prea mică înseamnă că raporturile de segregare experimentale nu pot fi luate în considerare pentru demonstrarea unei anumite ipoteze. În mod convențional, pentru cea mai mare parte a experiențelor din biologie, se elimină o ipoteză când $P < 5\%$ (adică atunci când șansa ca o ipoteză adevărată să fie eliminată este de 1:20). În acest caz, se consideră că valorile experimentale se abat semnificativ față de valorile așteptate (teoretice) în cadrul ipotezei stabilite.

Abaterile mari dintre valorile experimentale și cele teoretice, în cadrul unei anumite ipoteze, se pot datora următoarelor cauze:

- ipoteza privind raportul de segregare nu este justă, caz în care se lansează o altă ipoteză care să poată fi luată în considerare;
- valorile experimentale au fost afectate de o serie de erori (determinări greșite, impurificări mecanice sau biologice a descendenței analizate, etc.);
- numărul de indivizi cercetați a fost prea mic.

Utilizarea testului χ^2 în analiza rezultatelor experimentale de genetică are două limitări importante: i) elementele de calcul trebuie să fie numărul de indivizi din clasele fenotipice și nu procentele sau proporțiile deduse din aceste efective; ii) nu se pot utiliza când o clasă fenotipică are un număr mai mic de 5 indivizi.

În mod teoretic, testul χ^2 se folosește numai în cazul variabilelor continue (caracterelor cantitative) cu o distribuție normală. La analiza caracterelor cantitative, de pildă talia plantelor într-o populație (soi), clasa cea mai frecventă va corespunde taliei medii, iar celelalte clase mai puțin frecvente, vor corespunde taliilor mai mici. Toate taliile plantelor sunt posibile între minus și plus variabilă, ceea ce înseamnă că, acest caracter are o distribuție continuă. La caracterele calitative unde numărul claselor fenotipice este de obicei restrâns, în unele cazuri trebuie să se introducă o corecție pentru a ține cont de absența continuității. Această corecție implică o ușoară diminuare a valorii lui χ^2 , care poate avea importanță mare în vecinătatea valorii critice corespunzătoare lui $P_{5\%}$. Această corecție este obligatorie când anumite clase fenotipice cuprind între 5 – 10 indivizi. Testul χ^2 corectat se calculează după formula:

$$\chi^2_{\text{corectat}} = \sum [(d - 0,5)^2 / t]$$

Exemplu:

La încrucișarea unui soi de tomate cu pulpa roșie cu un soi cu pulpă galbenă rezultă în F_1 numai plante cu pulpă roșie. În F_2 din cele 400 plante s-au găsit 90 plante ale căror fructe au pulpă galbenă. Presupunem că acest caracter este guvernat de o singură genă și că pulpa roșie (Y.) este dominantă față de pulpa galbenă (yy).

Rezolvare:

P: YY(roșie) x yy(galbenă)

F_1 : Yy(roșie)

F_2 : Raport teoretic: 3/4 Y. (roșie)
1/4 yy (galbenă)

Fiind vorba de numai două clase fenotipice se calculează obligatoriu χ^2 corectat:

Clase fenotipice	Valori exper. (e)	Valori teoretice (t)	(e - t) - 0,5	[(e - t) - 0,5] ² / t
roșie	310	3/4 x 400 = 300	9,5	0,300
galbenă	90	1/4 x 400 = 100	9,5	0,902
Total	400	400		$\chi^2 = 1,102$

$$GL = 2 - 1 = 1$$

Testul χ^2 nu are valoare semnificativă, întrucât $P > 20\%$ și deci, ipoteza privind raportul de segregare este justă.

Rezumat: Ereditatea mendeliana; Ereditatea caracterelor in cazul monohibridarii; Tipuri de relatii interalelice la monohibridare; Domonanta si recesivitate ; Semidominanta; Supradominanta; Letalitatea; Penetranță și expresivitate; Relațiile dintre gene și mediu; Sisteme plurialele (Alele multiple); Mecanismul citologic al segregării genelor; Analiza caracterelor polihibride; Analiza incrucisărilor di-factoriale (dihibridarea); Analiza caracterelor la trihibridare; Interacțiunea între gene nealele; Interacțiuni genice epistatice; Verificarea raporturilor de segregare (Testul χ^2)

Test autocontrol:

1	Prin hibridare se intelege:	a) castrarea formei tata
		b) castrarea formei mama
		c) castrarea formei mama si polenizarea cu polen de la forma tata
2	Cate tipuri diferite de gameti va produce structura genetica AABbCcDDEe ?	a) 3
		b) 8
		c) 4
3.	Prin incrucisarea intre un soi de mazare cu pastai cilindrice si un soi cu pastai aplatizate, in F_1 au rezultat numai plante cu pastai cilindrice. Ce raport fenotipic va apare in F_2 ?	a) 1 aplatizate : 3 cilindrice
		b) 1 cilindrice : 3 aplatizate
		c) 2 aplatizate : 2 cilindrice
4	Mama are grupa sangvina B, copilul grupa O. Ce grupa sangvina poate avea tatal ?	a) O, AB
		b) O, A homozigota
		c) O, A heterozigota, B heterozigota.
5	In cazul relatiei de semidominanta pentru doi loci, raportul fenotipic in generatia F_2 , va fi:	a) 9:3:3:1
		b) 4:2:2:2:1:1:1:1
		c) 12: 3: 1
6	Structura heterozigota, presupune prezenta:	a) a doua alele diferite
		b) a doua alele de acelasi fel
		c) a trei alele diferite

CAPITOLUL III

MECANISMUL CROMOZOMAL AL EREDITĂȚII

1. TEORIA CROMOZOMALĂ A EREDITĂȚII

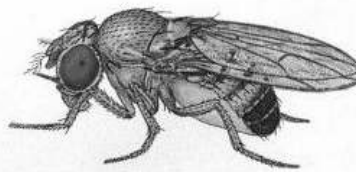
Pe baza încrucișărilor la mază, Mendel a observat și a explicat fenomenul de segregare și combinare independentă a genelor, care afectează în egală măsură și cromozomii, fiecare genă fiind localizată pe un cromozom. În felul acesta, în meioză, are loc o distribuție independentă a fiecărui cromozom din perechea parentală, într-un gamet sau altul. Întrucât în experiențele sale Mendel a folosit la încrucișare indivizi care posedau caractere determinate de gene independente, localizate fiecare pe câte un cromozom, genele dintr-un heterozigot de tipul AaBb s-au separat în meioză independent și s-au combinat în procesul de fecundare liber în combinații posibile, într-un raport fenotipic de 9:3:3:1.



Thomas Hunt Morgan

Revine meritul lui **Thomas Hunt Morgan** (1866–1945) și colaboratorilor săi (**C.B. Bridges**, **A.A. Sturtevant** și **H.J. Muller**) care între anii 1910 – 1915 au efectuat numeroase încrucișări la *Drosophilla melanogaster* și pe baza rezultatelor obținute au elaborat **teoria cromozomială a eredității**, care în esență asociază genele cu cromozomii.

Efectuând cercetări similare pe *Drosophilla* ei au demonstrat că fazele de cuplare și repulsie sunt consecința localizării genelor în același cromozom; între cromozomii omologi poate avea loc un schimb reciproc de gene în proporții diferite, care determină apariția unor gameți, și respectiv indivizi, recombinanți (cu cromozomi recombinanți)



Drosophila melanogaster $2n = 8$

Cercetările și concluziile lui T.H. Morgan și ale colaboratorilor săi au fost sintetizate în trei teze (teorii):

- **plasarea liniară a genelor pe cromozomi** (care a fost asemuită cu aranjarea mărgelilor într-un șirag). Această teză s-a bazat pe faptul că la *Drosophilla* se cunoșteau peste 500 gene mutante, iar în gameții acesteia există numai 4 cromozomi ($2n = 8$), și în consecință, mai multe gene se găsesc în același cromozom;
- **tendința genelor de pe același cromozom de a se transmite în bloc sau înlănțuite (linkage)**, adică de a intra în gameți în combinații parentale, comportându-se ca o unitate în ereditate. Când două sau mai multe gene sunt localizate în același cromozom, spunem că sunt înlănțuite. Ele pot fi înlănțuite fie pe un autozom (gene linkage), fie pe un cromozom al sexului (gene sex-linkage);
- **tendința genelor înlănțuite de a intra în gameți în alte combinații decât cele parentale**, acest fenomen fiind denumit **crossing-over**. În esență, crossing-over-ul reprezintă un schimb reciproc de segmente cromatidice nesurori între doi cromozomi omologi. În urma acestui schimb de material genetic (gene) apar cromatide recombinante cu combinații noi de gene, denumite **crossovere** sau **recombinări**, fiind deosebite de combinațiile parentale.

1. 1. ÎNLĂNȚUIREA GENELOR DISPUSE ÎN ACELAȘI CROMOZOM (LINKAGE)

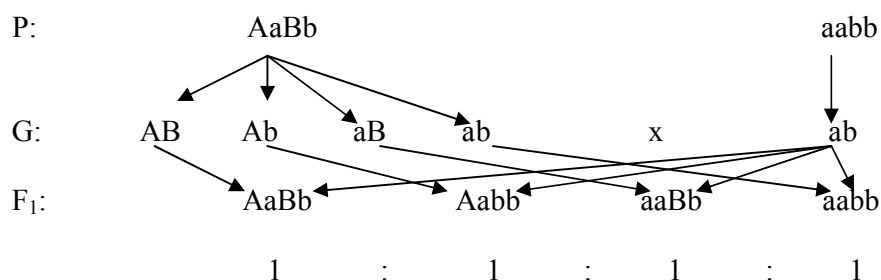
Studiul fenomenului de linkage a permis evidențierea mai multor situații. Astfel, s-a stabilit că el poate fi complet (absolut sau total), atunci când genele de pe același cromozom au tendința permanentă de a rămâne înlănțuite și incomplet (relativ sau parțial), când între cromozomii omologi au loc schimburi reciproce de gene.

Detectarea linkage-ului se poate face în două moduri:

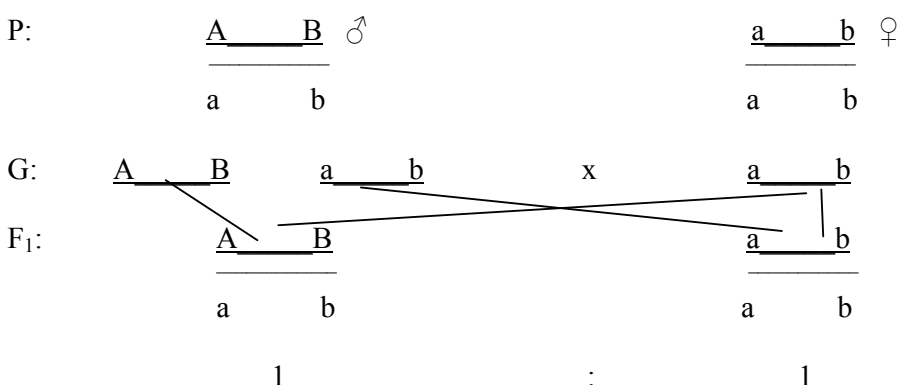
a) *prin testcross-ul heterozigotului F_1* (mai ales la organismele dioice unde încrucișarea se face ușor).

Metoda constă în apariția în descendența testcross a unui raport de segregare 1:1, indiferent de numărul de gene înlănțuite.

La testcross-ul unui dihibrid heterozigot (F_1), în cazul genelor independente (gene localizate pe cromozomi diferiți), rezultă un raport de segregare de 1:1:1:1.



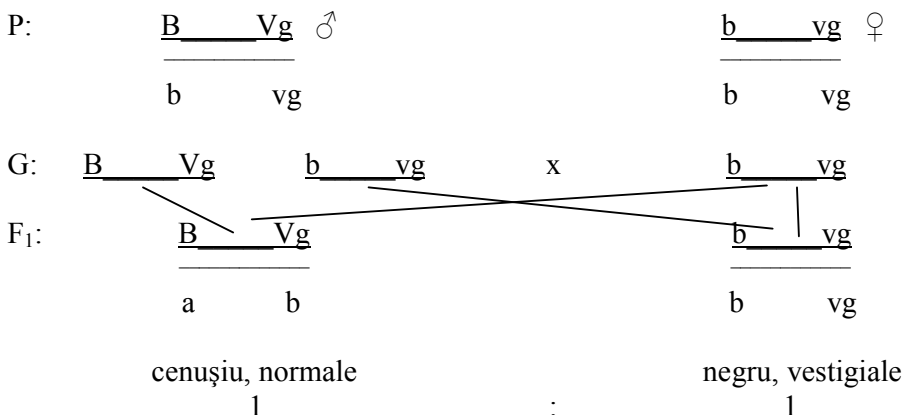
În cazul testcross-ului unui dihibrid heterozigot cu gene înlănțuite (situate pe același cromozom) rezultă raportul de segregare de 1:1, reprezentând formele parentale:



Orice deviere de la raportul testcross de 1:1:1:1 indică o abatere de la combinarea independentă, cel mai adesea datorată fenomenului de linkage.

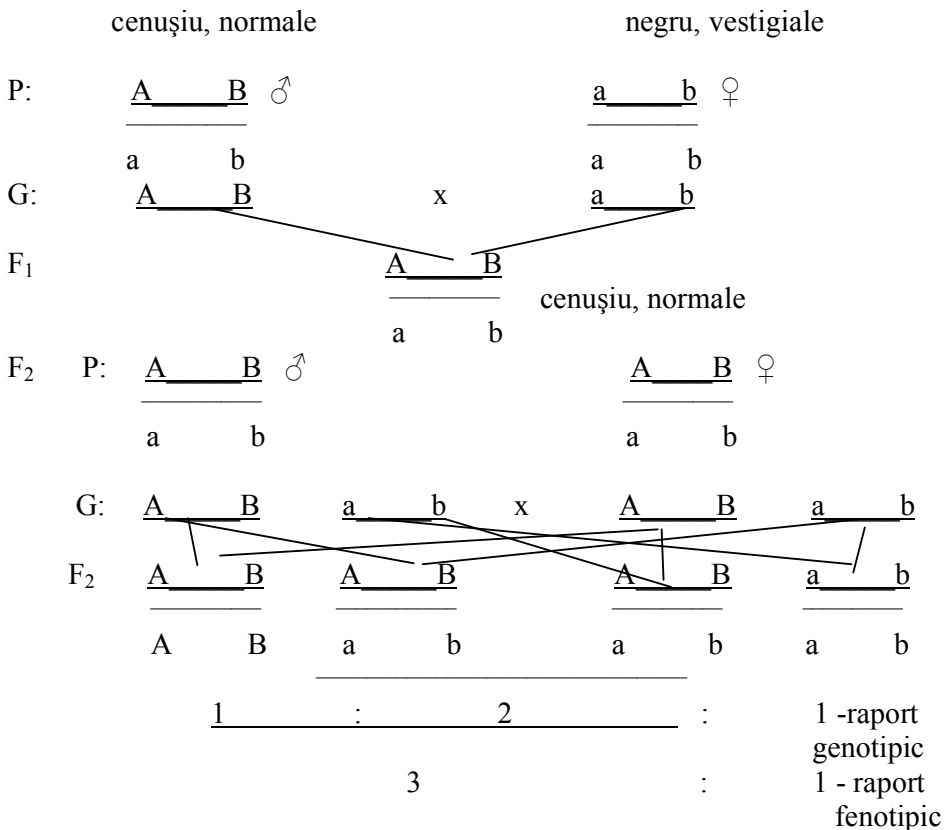
Exemplu:

La încrucișarea unor masculi heterozigoți de *Drosophila* cu corp cenușiu și aripi normale (BVg/bvg) cu femele dublu recesive cu corp negru și aripi vestigiale ($bvg // bvg$) folosite ca tester, rezultă în loc de 1 $BbVgvg$: 1 $Bbvgvg$: 1 $bbVbvb$: 1 $bbvgvg$, cât ar fi rezultat la combinarea independentă a genelor, un raport simplu de 1 $BVg // bvg$: 1 $bvg // bvg$, care indică înlănțuirea celor două gene. Acest testcross se prezintă schematic astfel:



c) prin studiul generației F_2 (preferabil la organismele hermafrodite și monoice la care testcross-ul se execută mai dificil). În cazul unei dihibridări cu gene independente raportul fenotipic în F_2 este de 9:3:3:1, iar la o dihibridare cu gene linkage, precum și la orice polihibridare linkage raportul în F_2 este de 3:1. O dihibridare cu gene linkage se desfășoară după schema de mai jos.

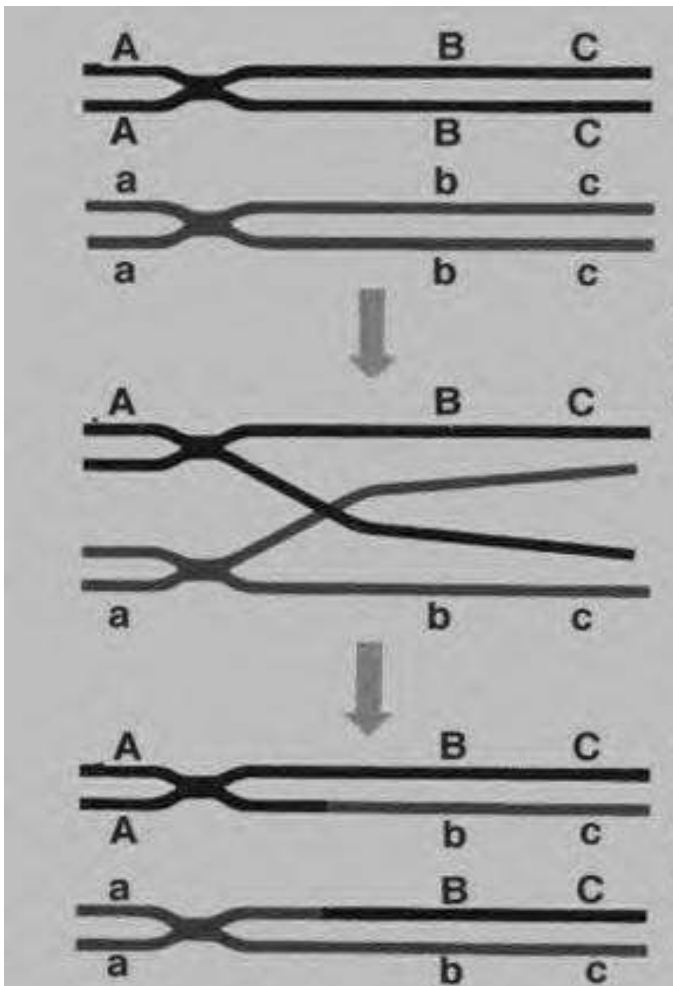
Linkage-ul complet se manifestă rar. El poate fi prezent numai într-o pereche sau într-o regiune oarecare a unei perechi de cromozomi, care nu poate să conjuge.



1. 2. SCHIMBUL RECIPROC DE GENE (CROSSING- OVER-UL)

Crossing over-ul apare în meioză, dar poate să apară și în mitoză, în diferite țesuturi și organe.

În cursul meiozei, fiecare cromozom se duplică în două cromatide surori, identice. Cromozomii omologi se împerechează (conjugă) și formează tetrade cromatidice; între cromatidele nesurori pot avea loc schimburi reciproce de segmente (gene). În schema de mai jos prezentăm situația când are loc un singur crossing over între două gene, A și B.



Rezultă că două dintre cele patru cromatide nu au suferit crossing over și au genele asociate ca în cromozomii parentali (**cromatide parentale**), iar celelalte două cromatide au suferit crossing over-ul (schimb reciproc de gene) și prezintă asociații noi de gene (**cromatide recombine** sau **remaniate**).

Un crossing over în afara intervalului A-B nu produce schimbări între cei doi markeri (A și B).

Dacă între doi loci (A-B) apar două crossing overe între aceleași cromatide surori, cromatidele rezultate la sfârșitul meiozei vor fi toate de tip parental.

Orice dublu crossing over între doi markeri A și B, nu poate fi decelat decât în prezența unui al treilea marker C situat între A și B.

Dacă între A și C, pe de o parte și între C și B, pe de altă parte, probabilitățile de apariție a unui crossing over sunt x și, respectiv y , probabilitatea crossing overe-lor duble (unul între A și C și altul între C și B) este egală cu produsul xy .

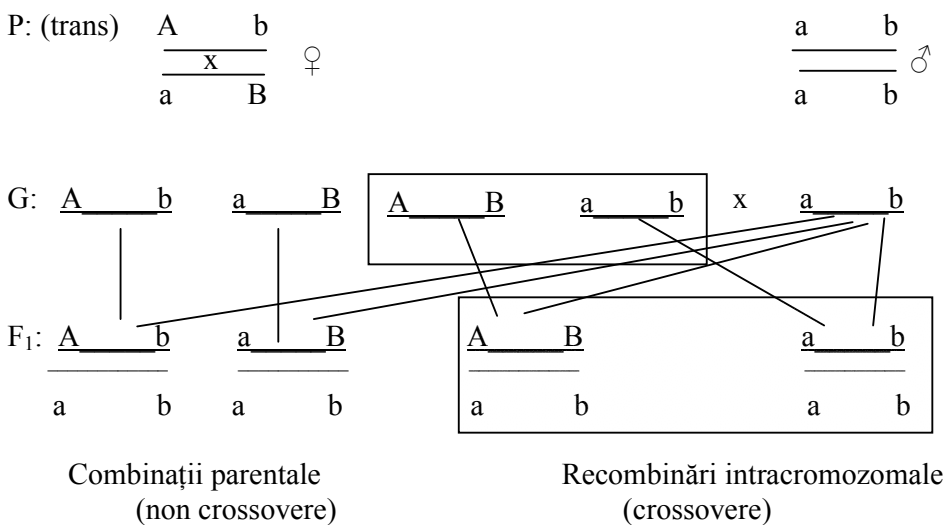
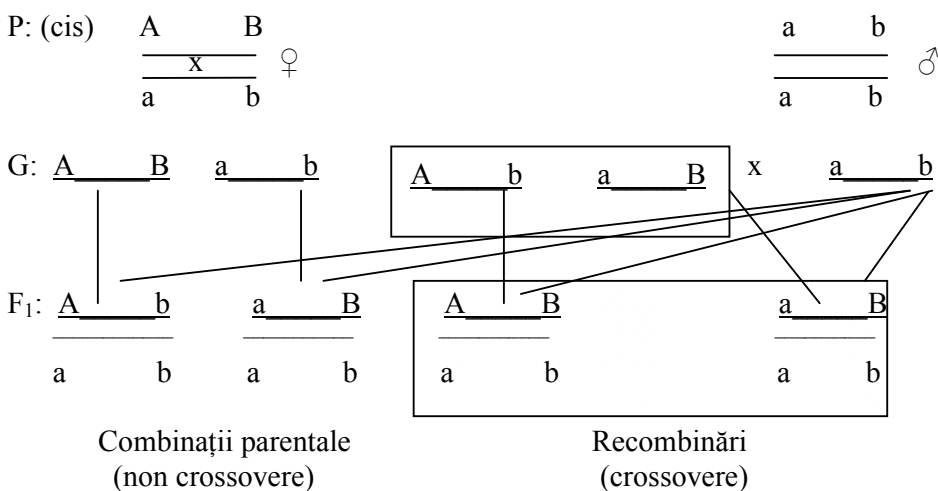
Crossing over-ul se detectează ca și linkage-ul prin *testcross-ul heterozigotului F_1* și *analiza ralortului de segregare în F_2* .

a) *detectarea crossing over-ului prin testcross* (la crossing over-ul între doi loci). Un dublu heterozigot care se testează cu părintele dublu recesiv poate avea două poziții ale alelelor: i) poziția cis, când ambele alele dominante se găsesc pe un cromozom, iar alelele recesive pe cromozomul omolog (AB // ab) și ii) poziția trans, când fiecare cromozom are o alelă dominantă și altă alelă recesivă (AB // aB). Aceasta indică faptul că gameții de aceeași constituție pot fi parentali sau recombinanți după asocierea genelor parentale.

Analizele hibridologice efectuate la *Drosophila* de către Morgan și colaboratorii au relevat faptul că heterozigotul F_1 folosit ca femelă formează patru tipuri de gameți în proporții diferite: gameții de

tip parental apar cu o frecvență mare, iar gameții recombinati cu o frecvență scăzută. Testerul mascul este homozigot și recesiv, formând un singur tip de gameți. În descendența testcross apar patru fenotipuri în proporții determinate de cele patru tipuri de gameți. Combinațiile parentale (non cross overe), care apar în proporția cea mai mare, indică intensitatea linkage-ului între cei doi loci considerați, iar tipurile noi de indivizi reprezintă recombinările genelor (crossovere).

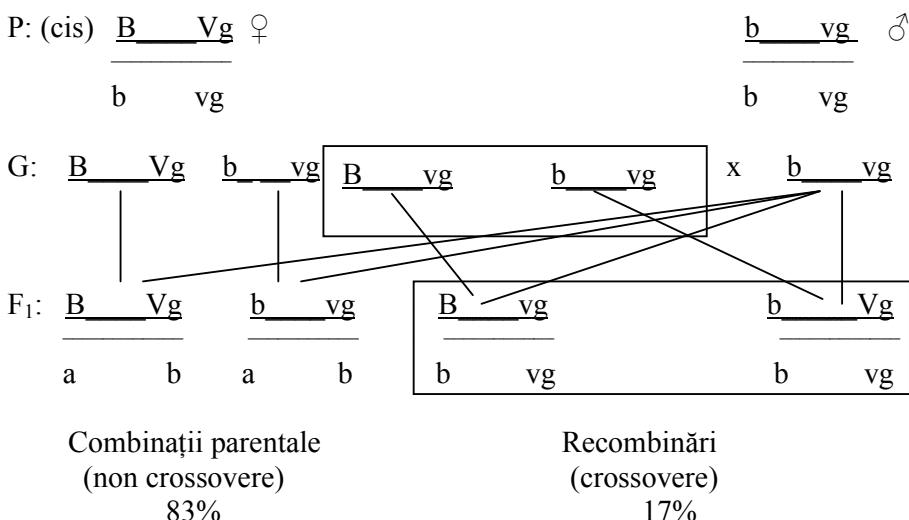
Crossing over-ul se poate prezenta schematic astfel:



Exemplu:

La încrucișarea unei femele heterozigote de *Drosophila* cu corp cenușiu și aripi normale (BVg // bvg0 cu un mascul dublu recesiv (bvg // bvg) au rezultat în descendența acestui testcross 41,5% indivizi cu corp cenușiu și aripi normale, 41,5% cu corp cenușiu și aripi vestigiale, 8,5% cu corp negru și aripi vestigiale și 8,5% cu corp negru și aripi normale. Primele două fenotipuri reprezintă combinațiile parentale (non crossovere) care însumează 83%, iar ultimele două fenotipuri reprezintă recombinări ale celor două gene (crossovere), datorate schimbului reciproc de gene între cei doi cromozomi omologi, însumând 17%.

Analiza acestor rezultate i-au permis lui Morgan să constate că frecvența crossing over-ului între cele două gene (B și Vg) reprezintă distanța dintre aceste gene localizate în același cromozom. Când s-au folosit în analize hibridologice alți loci (gene), frecvența recombinărilor a fost alta, demonstrând astfel, corelația dintre frecvența crossing over-elor înregistrate și distanța între genele implicate.



La încrucișarea trans s-a constatat că între cei doi loci apare crossing over-ul cu aceeași frecvență, aceasta constituind un argument în plus pentru dependența dintre frecvența crossing over-elor și distanța dintre gene.

b) *detectarea crossing over-ului prin analiza descendenței F₂* (la crossing over-ul între cei doi loci). La plante și îndeosebi la cele hermafrodite și unisexual monoice, la care prin testarea heterozigotului s-ar obține puține semințe (respectiv indivizi) este mai indicată detectarea crossing over-ului prin analiza raportului de segregare în F₂.

În cazul a doi loci independenți (nu manifestă linkage), segregarea fenotipică în F₂ este tipic mendeliană, adică de 9:3:3:1. Dacă cei doi loci manifestă linkage, atunci în F₂ se vor manifesta fenotipic în exces combinațiile parentale (non crossoverele), în timp ce recombinările (crossoverele) vor apare cu o frecvență scăzută, dependentă de distanța dintre genele considerate.

1.2.1. FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ

CROSSING - OVER-UL

Dacă mediul de viață în care se execută experimentul pentru relevarea crossing over-ului rămâne constant de la o generație la alta, atunci frecvența crossoverelor dintre gene nu se modifică, ceea ce indică faptul că acest fenomen este determinat genetic. În condiții de mediu cu factori variabili, valoarea crossing over-ului se poate modifica într-un sens sau altul. De asemenea, anumiți factori biologici sau genetici pot afecta, în anumite cazuri, în mod drastic, valoarea crossing over-ului. De aceea, încrucișările efectuate în scopul estimării valorii crossing over se fac în condiții de mediu constante (uniforme) și cu genitori puri.

Dintre factorii care influențează direct sau indirect fenomenul de crossing over menționăm pe cei mai semnificativi, și anume (T. Crăciun și colab., 1978):

- **Sexul.** La organismele cu lipsă de omologie între cromozomii sexului X și Y, însoțită adesea de absența chiasmelor între autozomii omologi (în profaza I a meiozei), nu apare sau este foarte redus fenomenul de crossing over. De exemplu, la diptere, la care masculul este heterogametetic (XY), precum și la unele lepidoptere la care femela este heterogametetică (XY), nu apare crossing

over-ul. La organismele cu crossing over la ambele sexe, există adesea diferențe de la un sex la altul. De regulă, o frecvență mai scăzută a crossoverelor se observă tot la sexul heterogamic.

- **Vârsta.** La *Drosophila melanogaster*, Bridges (1927) a constatat că femele de vârstă diferite produc crossovere în proporții variabile. Astfel, la începutul maturității sexuale se înregistrează o frecvență maximă de crossovere, iar după aceea la intervale diferite de timp, s-au observat mai multe minime. La porumb, s-au observat, de asemenea, fluctuații ale frecvenței de crossovere în raport cu vârsta plantelor, iar la femeile între 35-40 de ani crește rata non-disjuncției perechii de cromozomi X, ceea ce determină apariția unor descendenți aneuploizi, adesea cu afecțiuni (sindromuri) foarte grave.

- **Zona heterocromatinei.**

În zona heterocromatinei a cromozomului, situată de o parte și de alta a centromerului, precum și în sateliți, chiasmele lipsesc sau se găsesc cu o frecvență redusă. Genele din această parte a cromozomului sunt foarte dense, puternic spiralizate, cu posibilități mici de transcripție și deci, de funcționare, fiind considerate inactive.

- **Modificările în structura cromozomului.**

În funcție de natura lor, pot reduce sau suprima prezența chiasmelor între cromozomii omologi. Aceste modificări apar cu frecvență mare în urma tratamentelor cu agenți mutageni în doze mari, care induc numeroase și diferite dislocații cu efecte negative asupra organismelor.

Practic, toate tipurile de modificări în structura cromozomilor (deficiențele, duplicațiile, inversiile, translocațiile) în stare heterozigotă suprimă sau reduc apariția chiasmelor prin lipsa omologiei induse artificial între cromozomii pereche.

- **Modificările numărului de genomuri sau de cromozomi**

(autopoliploidia, aloploidia, monosomia) reduc sau suprimă total apariția chiasmelor și respectiv, a crossing over-ului.

- **Factorii de mediu** (temperatura, lumina, umiditatea, nutriția, etc.) pot afecta în mod diferit, în anumite etape ale dezvoltării organismelor, apariția chiasmelor și respectiv, a crossing over-ului, mai ales în regiunile heterocromatice ale cromozomilor.

1.2.2. TIPURI DE CROSSING - OVER

Crossing over-ul se poate clasifica după mai multe criterii, dintre care menționăm:

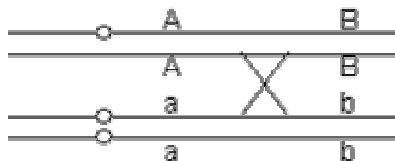
a) *după tipul de diviziune celulară în care apare* se cunosc două tipuri de crossing over, și anume:

1) **crossing over meiotic**, are loc în profaza I a meiozei și se identifică în diplonem, prin apariția chiasmelor între cromatidele nesurori ale cromozomilor omologi. Este tipul cel mai frecvent de crossing over, care prin recombinările intracromozomiale, reprezintă o sursă foarte importantă a variabilității organismelor. Condițiile majore pentru manifestarea fenotipică a acestui tip de crossing over sunt: prezența obligatorie a cromozomilor omologi în stare heterozigotă și realizarea formațiunilor citologice de tetradă cromatidică.

2) **crossing over mitotic sau somatic**. Mai sus am precizat faptul că crossing over-ul este asociat în mod normal, cu diviziunea meiotică. În anumite condiții și cu o frecvență foarte redusă, un fenomen asemănător poate avea loc și în diviziunea mitotică (în celulele somatice de la plante și animale, la sfârșitul interfazei sau în profaza mitotică, când cromozomii prece au format cele 4 fire cromatidice și sunt în stare heterozigotă. Acest tip de crossing over a fost denumit crossing over mitotic sau somatic și care se detectează fenotipic prin segregarea mitotică a genelor marker pe același individ, determinând apariția de țesuturi mozaicate (țesuturi normale alături de țesuturi recombinante). Crossing over-ul mitotic a fost pus în evidență la *Drosophila melanogaster* (C. Stern, 1936); la plante (J.H. Taylor, 1958), precum și la numeroase microorganisme (bacterii, ciuperci).

b) după nivelul la care are loc ruperea și schimbul de segmente cromozomiale, crossing over-ul poate fi:

1) **crossing over egal**, atunci când chiasmele apar între loci omologi (la același nivel sau punct) și segmentele cromatidice care se schimbă sunt egale (identice); acesta este tipul normal de crossing over, cu ruperi și schimburi simetrice (egale) de segmente cromatidice:



2) **crossing over inegal**, atunci când chiasma și, respectiv, schimbul segmentelor cromatidice care se schimbă sunt inegale. În cazul crossing over-ului inegal dispăre condiția de heterozigotie a cromozomilor omologi. Datorită acestui tip aparte de crossing over, într-o cromatidă remaniată vor apărea una sau mai multe gene în dublu exemplar, iar fenomenul se numește duplicție, iar în cealaltă cromatidă vor lipsi genele respective, de unde și denumirea de deficiență (vezi figura de mai jos).

Crossing over-ul inegal și consecințele sale asupra cromatidelor implicate



Sturtevant și Morgan (1923) au observat crossing over-ul inegal la *Drosophila*, la locusul B, segmentul 16 A din cromozomul X. Ochiul normal (B.) are un singur segment 16 A, în timp ce ochiul Bar (BB) este o duplicație în tandem cu două segmente 16 A, iar ochiul Bar (BBB) reprezintă o triplicație cu trei segmente 16 A. De la ochiul normal (forma rotundă), se ajunge la ochi mici, de formă oblongă – tipul Bar – și la ochi foarte mici - la tipul dublu Bar- , relevând în mod evident efectul de dozaj al genelor.

3) **crossing over-ul nelegitim**, atunci când chiasma apare între cromozomi heteromorfici care au porțiuni (zone) homoloage sau parțial homoloage (la indivizi haploizi sau poliploizi).

c) după complexitatea materialului genetic implicat în crossing over distingem două tipuri:

1) **crossing over intergenic** (între gene) în care schimbul reciproc între cromozomii omologi cuprinde segmente de cromatide (cromozomi) cu una sau mai multe gene. Este tipul obișnuit de crossing over a cărui valoare de schimb depinde de distanța dintre gene.

2) **crossing over intragenic** (în cadrul aceleiași gene), reprezintă schimburi reciproce între subunitățile unor gene complexe (loci complecși), denumite **subgene** sau **pseudoalele**. Aceste subgene (pseudoalele) au apărut în cadrul unor gene prin mutații în diferite zone ale acestora și care sunt alelice prin funcțiile lor. Subgenele pot fi separate și relevate fenotipic prin crossing over intragenic, analizând un număr foarte mare de indivizi, și în prezența unor gene marker lângă locusul studiat. Pseudoalelele sunt detectate fenotipic în poziția “trans”, când ele se găsesc plasate diferit pe

cei doi cromozomi pereche, în timp ce în poziția “cis” se manifestă fenotipul sălbatic. Cele două poziții pentru două gene pseudoalelele a_1 și a_2 sunt următoarele:

$$\frac{a_1 \quad \quad +}{+ \quad \quad a_2}$$
 - poziția trans, unde se manifestă fenotipic pseudoalelele a_1

$$\frac{a_1 \quad \quad a_2}{+ \quad \quad +}$$
 - poziția cis, unde se manifestă fenotipul sălbatic

Studiul unor gene la *Drosophila melanogaster* a relevat mai mulți loci complexi, cu două sau mai multe pseudoalele. Astfel, Lewis (1955) a observat crossing over intragenic la locii lozenge, white, forked (în cromozomul X), la locusul star în cromozomul II și la alți loci. Asemenea loci complecși au fost descoperiți și la alte specii de plante și animale (la bumbac, porumb, șoareci etc.).

2. ALCĂTUIREA HĂRȚILOR CROMOZOMALE

Harta cromozomală constituie reprezentarea grafică a cromozomilor cu indicarea ordinei și distanței relative a genelor linkage (pe fiecare cromozom). Dacă distanța dintre gene este estimată prin frecvența crossoverelor (în unități Morgan), reprezintă o hartă genetică. În cazul că pentru localizarea genelor pe cromozomi se folosesc observații citologice ale crossoverelor asociate cu mutații, dislocații cromozomale etc., se obține harta citologică. Cele mai complete, sunt **hărțile citogenetice**, care se alcătuiesc pe baza studiilor citologice ale crossoverelor, asociate cu stabilirea genelor de pe fiecare cromozom și a distanțelor dintre ele (proportionale cu frecvența crossoverelor).

Alcătuirea hărților genetice presupune o serie de etape, și anume:

- delimitarea grupelor linkage prin identificarea unor gene marker în fiecare cromozom (gene care se transmit în bloc), folosind fenomenul de aneuploidie;
- stabilirea distanței dintre genele din același cromozom prin determinarea frecvenței crossoverelor;
- determinarea ordinei (poziției) genelor în cromozomi.

Întrucât primele două etape de alcătuire a hărților cromozomale fac obiectul a două capitole distincte în prezentul manual, ne vom referi în continuare la ultimele două etape, care se bazează pe valorificarea fenomenului de crossing over.

Rezumat: Teoria cromozomala a eredității; Înlanțuirea genelor dispuse în același cromozom (linkage); Schimbul reciproc de gene (crossing-over-ul); Factorii care influențează crossing – over-ul; Tipuri de crossing – over; Alcătuirea hărților cromozomale

Test autocontrol:

7	Culoarea ochilor la <i>Drosophila melanogaster</i> reprezinta:	a) pleiotropie
		b) polihibridare
		c) serie alelica
8	In cazul unei trihibridari, sunt luate in considerare trei caractere ale genitorilor. Cate combinatii apar in generatia F ₂	a) 16
		b) 64
		c) 27
9	T.H. Morgan a elaborat :	a) doua legi ale ereditatii
		b) patru teorii privind ereditatea
		c) trei teze ale ereditatii
10	Procentul de crossovere reprezinta:	a) distanta dintre doi cromozomi
		b) distanta dintre doua celule
		c) distanta dintre doua gene plasate pe acelasi cromozom
11	In urma crossing-over-ului dintre doi cromozomi, rezulta:	a) doua cromatide parentale si doua recombinante
		b) patru cromatide parentale
		c) patru cromatide recombinante
12	In cazul incrucisarii unui individ cu genotipul AaBbCcDd (gene linkage complet) cu un individ cu genotipul aabbccdd, va apare urmatorul raport :	a) 3 :2
		b) 1:1
		c) 1:1:1:1
13	Dupa diviziunea in care apare, crossing-over-ul poate fi:	a) egal si inegal
		b) mitotic si meiotic
		c) intragenic si intergenic
14	De ce difera rezultatele hibridarilor efectuate de Mendel de cele efectuate de Morgan?	a) primul a studiat gene independente, iar Morgan gene plasate pe acelasi cromozom
		b) unul a studiat caractere calitative, iar celalalt cantitative
		c) au studiat specii diferite
15	Cele mai complete harti sunt	a) hartile cromozomale
		b) hartile genetice
		c) hartile citologice

CAPITOLUL IV

GENETICA CANTITATIVĂ

1. DETERMINISMUL GENETIC AL CARACTERELOR CANTITATIVE

Caracterele mendeliene care au făcut obiectul de studiu într-un capitol precedent sunt denumite caractere **calitative**, controlate de **gene** majore (mendeliene), cu efecte marcante asupra fenotipului și care practic, nu sunt influențate de condițiile de mediu. Cel mai adesea, un caracter calitativ este controlat de o singură genă majoră (mendeliană).

Majoritatea caracterelor și însușirilor organismelor nu se manifestă însă, prin diferențe pregnante, fiind uneori imposibil de a separa fenotipurile cu variații mici și greu de sesizat. Numeroase caractere cu importanță economică precum elementele de productivitate (numărul de frați, numărul de inflorescențe, numărul de boabe, greutatea fructelor sau semințelor pe plantă, etc), capacitatea de producție (producția de semințe, fructe, de masă vegetativă sau producția de lână, lapte, ouă etc), însușirile fiziologice (rezistență la ger, la secetă, la cădere etc), însușirile biochimice (conținutul în proteine, în ulei, în aminoacizi etc) prezintă o gamă continuă de fenotipuri între minus și plus varianta (variație continuă). Aceste caractere sau însușiri ale organismelor se pot număra, cântări sau măsura, exprimându-se numeric prin diferite valori care indică expresia lor fenotipică. Asemenea caractere au fost denumite **caractere metrice sau cantitative**, iar ramura geneticii care se ocupă cu studiul lor a căpătat denumirea de **genetică cantitativă**. În controlul expresiei fenotipice a caracterelor cantitative sunt implicate două sau mai multe perechi de gene denumite **gene multiple, poligene sau gene minore**; fiecare genă contribuie la realizarea fenotipului într-o anumită proporție și foarte discret, încât sunt necesare metode destul de complicate pentru determinarea efectului lor. De asemenea, caracterele cantitative sunt influențate puternic de factorii de mediu, care pot determina deviații ale fenotipului într-un sens sau altul.

Genele care intervin în controlul caracterelor cantitative pot avea efecte aditive și egale, efecte aditive și inegale și efecte opoziționale. Pe lângă genele multiple cu efecte aditive care au ponderea cea mai mare în cadrul variației genetice, pot interveni și unele gene nealele cu moduri de acțiune diferite.

În general, genele multiple implicate în manifestarea unui caracter cantitativ sunt situate în cromozomi neomologi (gene independente). Prezența în același cromozom a mai multor loci din același sistem de gene multiple (apăruți prin duplicație) constituie o piedică puternică în obținerea unor genotipuri care să posede fie numai alele pozitive (active sau contribuitoare) fie numai alele negative (inerte sau neutrale).

La începutul geneticii mendeliene se considera că există o diferență fundamentală între caracterele calitative și cele cantitative. Revine meritul lui **Nilsson-Ehle** (1909), de a elucida legătura între aceste două tipuri de caractere. Una dintre experiențele clasice care i-a permis să explice mecanismul eredității cantitative a constatat în încrucișarea unui soi de grâu cu boabe de culoare roșie foarte intensă cu un soi cu boabe albe. În F_1 toți indivizii erau omogeni, având boabe de culoare roșie intermediară, iar în F_2 a rezultat un raport global de segregare de 15 roșii : 1 alb. După gruparea atentă a indivizilor după intensitatea culorii bobului au rezultat 5 clase fenotipice, cu variație continuă, într-un raport de 1:4:6:4:1. El a interpretat aceste rapoarte fenotipice de segregare ca reprezentând segregarea a două perechi de alele cu efecte individuale cumulative care determină același caracter (vezi figura 10. 1.).

Fig. 10. 1. Ereditatea culorii bobului

P G F ₁ F ₂	Roșu intens				Alb	
	R ₁ R ₁ R ₂ R ₂				r ₁ r ₁ r ₂ r ₂	
	R ₁ R ₂	x			r ₁ r ₂	
	R ₁ r ₁ R ₂ r ₂ - roșu intermediar					
	Autofecundare					
	G ♂	♀	R ₁ R ₂	R ₁ r ₂	r ₁ R ₂	r ₁ r ₂
	R ₁ R ₂		R ₁ R ₁ R ₂ R ₂	R ₁ R ₁ R ₂ r ₂	R ₁ r ₁ R ₂ R ₂	R ₁ r ₁ R ₂ r ₂
	R ₁ r ₂		R ₁ R ₁ R ₂ r ₂	R ₁ R ₁ r ₂ r ₂	R ₁ r ₁ R ₂ r ₂	R ₁ r ₁ r ₂ r ₂
	r ₁ R ₂		R ₁ r ₁ R ₂ R ₂	R ₁ r ₁ R ₂ r ₂	r ₁ r ₁ R ₂ R ₂	r ₁ r ₁ R ₂ r ₂
	r ₁ r ₂		R ₁ r ₁ R ₂ r ₂	R ₁ r ₁ r ₂ r ₂	r ₁ r ₁ R ₂ r ₂	r ₁ r ₁ r ₂ r ₂

Din analiza generației F_2 rezultă că:

1/16 R ₁ R ₁ R ₂ R ₂	4/16 R ₁ R ₁ R ₂ r ₂ R ₁ R ₁ r ₂ R ₂ R ₁ r ₁ R ₂ R ₂ R ₁ r ₁ R ₂ r ₂	6/16 R ₁ R ₁ r ₂ r ₂ R ₁ r ₁ R ₂ r ₂ R ₁ r ₁ R ₂ R ₂ R ₁ r ₁ R ₂ r ₂ r ₁ r ₁ R ₂ R ₂	4/16 R ₁ r ₁ r ₂ r ₂ r ₁ R ₁ R ₂ r ₂ r ₁ r ₁ R ₂ r ₂ r ₁ r ₁ r ₂ R ₂	1/16 r ₁ r ₁ r ₂ r ₂
roșu foarte intens	roșu intens	roșu interm.	roșu deschis	alb
4 alele active	3 alele active	2 alele active	1 alelă activă	0 alele active

Fiecare alelă activă R_1 și R_2 contribuie cu o anumită parte la determinarea culorii roșii, fiind denumite gene active (contribuitoare sau favorabile), în timp ce alelele r_1 și r_2 determină numai culoarea albă (fenotipul rezidual), fiind denumite gene inerte (neutrale). Deci, distribuția genotipurilor și fenotipurilor calculate pe baza alelelor active și a celor neutrale este de 1:4:6:4:1, adică 1/16 posedă 4 alele active, 4/16 posedă 3 alele active, 6/16 posedă 2 alele active, 4/16 prezintă o singură alelă activă și 1/16 nu au nici o alelă activă.

În alte experiențe similare s-a găsit că la grâu, culoarea boabelor este controlată de trei perechi de gene. În acest caz, raportul general de segregare a fost de 63 boabe roșii de diferite nuanțe: 1 bob alb, rezultând 47 clase fenotipice de la roșu la alb în proporție de 1:6:15:20:15:6:1. Din cele prezentate mai sus, rezultă că pe măsură ce numărul de gene implicate în determinismul unui caracter cantitativ crește, numărul claselor fenotipice crește progresiv după o distribuție binomială, în timp ce frecvența claselor extreme scade.

În genetica cantitativă, ca dealtfel și în genetica calitativă, se folosesc frecvent noțiunile de "caracter" și "însușire". Considerăm necesar să precizăm că prin **caracter** se înțelege o particularitate

morfologică sau anatomică, iar prin **înșușire** se înțelege o particularitate fiziologică, biochimică, tehnologică sau adaptativă.

Pentru studiul eredității și variabilității caracterelor cantitative se fac în mod obligatoriu măsurători, numărători sau cântăriri asupra unor populații de indivizi, urmate de gruparea, prelucrarea și interpretarea datelor. Știința care indică metodele de calcul, de sinteză și de interpretare a rezultatelor experimentale privind modul de transmitere al caracterelor cantitative de la părinți la urmași, poartă denumirea de **biometrie, genetică cantitativă, biostatistică** sau **genetică statistică**. **Karl Pearson** a definit biometria ca fiind "știința ce utilizează metodele matematice în studiul eredității și variabilității viețuitoarelor". Biometria derivă de la cuvintele grecești "bios" - viață și "metros" - a măsura.

Obiectul biometriei îl constituie **variațiile** care se prezintă sub formă de valori numerice rezultate din măsurători, numărători, cântăriri, analize etc, efectuate asupra organismelor întregi sau a unor părți ale acestora (spice, boabe, inflorescențe, frunze, ramuri etc). Biometria operează cu date biologice și permite compararea populațiilor experimentale (soiuri, linii, hibrizi, sușe, cloni etc) cu populațiile ideale, formulând concluzii teoretice și practice pe baza datelor experimentale.

Analiza genetică a caracterelor cantitative trebuie să răspundă unor exigențe care să sporească eficacitatea selecției în procesele de ameliorare. Astfel, orice analiză genetică trebuie să rezolve în principal, următoarele probleme:

- să precizeze contribuția genotipului (G) și a mediului (E) în exprimarea fenotipică a diferitelor caractere în cadrul unui eșantion de indivizi;
- să calculeze diferențele dintre diferite populații și să stabilească semnificația (veridicitatea) acestor diferențe;
- să calculeze principalele valori (indici statistici) care furnizează informații cât mai precise asupra gradului de variabilitate al caracterelor analizate;
- să permită compararea valorilor empirice calculate pe probe medii cu valorile teoretice ale populațiilor statistice, care să indice corespondența între, datele experimentale și cele teoretice;
- să stabilească tipul și gradul de corelație dintre caracterele analizate;
- să calculeze diferențele de selecție, progresul genetic și indexul de selecție pentru caracterele cu importanță economică.

În perioada 1910-1913 **EM. East** și colaboratorii (citați de T.Crăciun și colab., 1978) au studiat ereditatea **dimensiunilor știuletelui la porumb**, ajungând la concluzii similare cu cele ale lui Nilsson-Ehle. Pentru relevarea eredității lungimii știuletelui de porumb, E.M. East a încrucișat un soi de porumb zaharat cu știulete lung cu un alt soi de porumb de floricele cu știulete mic, obținând în F_1 știuleți de lungime intermediară între cei doi părinți. Studiul generației F_2 a evidențiat o mare variabilitate a lungimii știuletelui între limite foarte largi, având o frecvență maximă indivizii din clasele de lungime mijlocie, în timp ce variabilele extreme au avut o frecvență foarte mică. Gruparea indivizilor din F_2 în clase fenotipice (după lungimea știuleților) a dus la obținerea a 5 clase într-un raport de 1:4:6:4:1, sugerând faptul că acest caracter este controlat de două perechi de gene multiple.

Tot **E.M. East** (1916) a pus în evidență ereditatea cantitativă a **lungimii corolei la florile de tutun**. Pentru aceasta el a încrucișat două soiuri pure de *N. longiflora* cu un soi cu tubul corolei lung și celălalt cu tubul corolei scurt. În F_1 plantele aveau flori cu lungime mijlocie a corolei, iar în F_2 s-a observat o mare variabilitate a acestui caracter, fără a se găsi indivizi cu valorile extreme ale părinților. Autorul a explicat acest fenomen prin implicarea unui număr relativ mare de gene multiple, ceea ce a determinat apariția cu frecvență redusă a formelor extreme. Reapariția formelor parentale ar fi posibilă în contextul unei populații hibride F_2 mult mai numeroase.

Ulterior, au fost studiate numeroase caractere cantitative determinate de sisteme de gene multiple cu efecte aditive la mazăre, soia, grâu, gura leului, tomate, etc.

2. SISTEME DE GENE MULTIPLE

De la început geneticienii s-au preocupat de stabilirea relațiilor alelice și intergenice din cadrul sistemelor poligenice.

În experiențele de pionierat ale lui **Nillson-Ehle** efectuate la grâu s-a descoperit faptul că genele multiple implicate în culoarea bobului au efecte egale și aditive. Ulterior, odată cu diversificarea și dezvoltarea cercetărilor de genetică cantitativă s-au descoperit și alte sisteme de gene multiple: cele cu efecte inegale și aditive și cele cu efecte opoziționale, precum și relația genelor multiple cu gene din afara sistemului poligenic (gene cu dominanță totală, gene epistatice, gene modificatoare etc).

Pentru relevarea relațiilor posibile dintre genele multiple să presupunem că avem un sistem poligenic cu 4 perechi de gene care controlează un anumit caracter cantitativ. Unul dintre părinți are genele active (contribuitoare), respectiv $A_1A_1A_2A_2A_3A_3$ (P_1), iar celălalt părinte are numai genele neutre, respectiv $a_1a_1a_2a_2a_3a_3$ (P_2). Dacă se consideră că fiecare alelă activă contribuie la realizarea caracterului cu trei unități, iar o alelă neutrală contribuie cu o singură unitate, atunci putem să exemplificăm principalele modele de sisteme poligenice (**T.Crăciun** și colab., după **V. Granth**, 1964; 1975).

2. 1. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE EGALE ȘI ADITIVE (MODELE POLIMERICE).

În acest sistem, genele implicate au efecte egale și aditive, iar modul lor de comportare în F_1 și F_2 se prezintă astfel:

$$P_1: A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4 = 6 + 6 + 6 + 6 = 24$$

$$P_2: a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4 = 2 + 2 + 2 + 2 = 8$$

$$F_1: A_1a_1A_2a_2A_3a_3A_4a_4 = 4 + 4 + 4 + 4 = 16 \text{ (intermediar)}$$

În F_2 , vor rezulta 9 clase fenotipice cu variație continuă, în raportul de 1:8:28:56:70:56:28:8:1, cu valorile extreme de $1/256 A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ - $1/256 a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$. Reprezentarea grafică a distribuțiilor din F_2 determină o curbă normală și simetrică cu extremele 8 și 24, iar media de 16 (la mijlocul curbei).

Dacă la unul dintre loci, între cele două alele apare relația de dominanță și recesivitate, de exemplu între A_1 și a_1 , atunci valoarea și distribuția fenotipurilor va fi următoarea:

$$P_1: A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4 = 6 + 6 + 6 + 6 = 24$$

$$P_2: a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4 = 2 + 2 + 2 + 2 = 8$$

$$F_1: \underline{A_1} \underline{a_1} A_2a_2A_3a_3A_4a_4 = 6 + 4 + 4 + 4 = 18$$

În acest caz, valoarea hibridului F_1 nu mai este intermediară (este mai mare), iar în F_2 rezultă tot 9 clase, însă curba de variație va fi asimetrică, deviată spre părintele P_1 .

2. 2. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE INEGALE ȘI ADITIVE (MODELE ANISOMERICE).

În acest caz, alelele din sistem au contribuții diferite (inegale) la realizarea fenotipului. Dacă în exemplul folosit locusul A_1 are efecte triple față de locii A_2 , A_3 și A_4 (în lipsa dominanței totale), modelul anisomeric se prezintă astfel:

$$P_1: A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4 = 18 + 6 + 6 + 6 = 36$$

$$P_2: a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4 = 6 + 2 + 2 + 2 = 12$$

$$F_1: A_1a_1A_2a_2A_3a_3A_4a_4 = 12 + 4 + 4 + 4 = 24$$

$$F_1: A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4 \longleftrightarrow a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$$

$1/256 \qquad \qquad \qquad 1/256$

Și în scest caz, în F_1 hibridii prezintă valori intermediare, iar în F_2 ei se distribuie tot după o curbă simetrică, cu un număr mai mare de clase fenotipice și cu o frecvență mai redusă a indivizilor cu valori mijlocii. Dacă una dintre perechile de gene manifestă dominanță totală (de exemplu, $A_1 > a_1$), atunci în F_1 și în F_2 curba de variație suferă o deviație spre părintele P_1 cu alela dominantă:

$$P_1: A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4 = 18 + 6 + 6 + 6 = 36$$

$$P_2: a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4 = 6 + 2 + 2 + 2 = 12$$

$$F_1: \underline{A_1} \underline{a_1} A_2a_2A_3a_3A_4a_4 = 12 + 4 + 4 + 4 = 24$$

$$\text{Deci hibridul } F_1 > (P_1 + P_2) / 2$$

2. 3. SISTEME DE GENE MULTIPLE CU EFECTE OPOZITIONALE

În scest caz, unele gene din sistem acționează în sens pozitiv, iar altele în sens negativ. Expresia fenotipică rezultă din suma algebrică a genelor multiple implicate. Folosind tot exemplul anterior cu 4 loci, în care gena A_1 are efect pozitiv, iar genele A_2 , A_3 și A_4 au efecte negative, rezultă următoarele fenotipuri:

$$P_1: A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4 = 54 - 6 - 6 - 6 = 36$$

$$P_2: a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4 = 18 - 2 - 2 - 2 = 12$$

$$F_1: A_1a_1A_2a_2A_3a_3A_4a_4 = 36 - 4 - 4 - 4 = 24$$

Se observă că și în această situație, fenotipul este intermediar în F_1 , iar în F_2 , anumite genotipuri (combinații de gene) depășesc valorile extreme, datorită segregării transgresive. Astfel, genotipul $A_1A_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$ cu fenotipul $54 - 2 - 2 - 2 = 48$, care depășește cu mult părintele cu fenotipul maximal ($P_1 = 36$) și este dublu comparativ cu $F_1 = 24$, în timp ce genotipul $a_1a_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$ cu fenotipul $18 - 2 - 6 - 6 = 4$ este cu mult inferior părintelui minimal ($P_2 = 12$). O situație similară apare și în F_1 , în situația în care la unii loci din sistemele opoziționale sunt implicate gene majore cu dominanță completă. Astfel, dacă perechea de alele multiple cu efecte pozitive A_1a_1 manifestă dominanță totală în F_1 , atunci genotipul din F_1 ($A_1a_1A_2a_2A_3a_3A_4a_4$ a_4) cu fenotipul $54 - 4 - 4 - 4 = 42$ depășește părintele maximal, P_1 cu fenotipul $54 - 6 - 6 - 6 = 32$.

3. CONSANGVINIZAREA

Consangvinizarea reprezintă autofecundarea forțată a plantelor alogame sau încrucișarea între indivizi înrudiți, la animale și om, (frate x soră, tată x fiică, mamă x fiu).

Descendența consangvină timp de mai multe generații succesive a unei plante alogame sau a unei perechi de indivizi (la animale) este cunoscută sub denumirea de *linie consangvinizată*.

Efectul major al consangvinizării este obținerea de genotipuri noi, homozigote, ca urmare a desfacerii populației autofecundate în genotipurile componente. Astfel, consangvinizarea reprezintă o altă sursă importantă de variabilitate genetică.

Consangvinizarea constituie o metodă utilizată în ameliorarea numeroaselor specii de plante alogame (porumb, floarea soarelui, sfeclă, ceapă, varză, morcov, castraveți, etc.), precum și la unele specii de animale (păsări, porci etc.).

3. 1. EFECTELE FENOTIPICE ALE CONSANGVINIZĂRII

Datorită consangvinizării, are loc o reducere puternică a vitalității, care afectează capacitatea de creștere, de reproducere și de adaptare, mai ales după prima autofecundare forțată (C_1). Aceste fenomen cunoscut și sub denumirea de *depresiune de consangvinizare*, variază foarte mult cu specia de plante. Astfel, este nulă la dovleac, foarte mică la sfeclă și foarte puternică la porumb, floarea soarelui, varză, salată, ceapă, morcov, etc. Reducerea vitalității are loc până la $C_7 - C_8$, când se ajunge la un *minim de consangvinizare*.

Scăderea vitalității este marcată de reducerea taliei, a suprafeței foliare, diminuarea elementelor de productivitate și, respectiv, scăderea evidentă a producției, apariția unor deficiențe clorofilene etc.

Un efect fenotipic important îl reprezintă scăderea rezistenței liniilor de consangvinizare la anumiți factori de mediu datorită îngustării bazei genetice.

Odată cu creșterea numărului de generații consangvine se realizează uniformitatea fenotipică a liniilor consangvinizate, care practic după 7-10 generații sunt homozigote la majoritatea locilor.

3.2 EFECTELE GENOTIPICE ALE CONSANGVINIZĂRII

Cele mai importante efecte genotipice sunt următoarele:

-*segregarea puternică în primele generații de autofecundare și desfacerea populației în biotipurile componente* care pot fi : homozigot-recesive, homozigot-dominante, homozigot-recesive pentru anumiți loci și homozigot-dominante pentru alți loci. De exemplu, individul cu genotipul AaBbCcDd poate segrega în biotipurile:

<u>AaBbCcDd</u>	<u>AaBbCcDd</u>
aaBbCcDd	AABbCcDd
aabbCcDd	AABBCCdD
aabbccDd	AABBCCDD
aabbccdd –homozigot recesiv	AABBCCDD-homozigot dominant
<u>AaBbCcDd</u>	
AAbbCcDD	
aaBBCCDD- homozigoți recesivi și dominanți	
AABBccDD	
AABBCCdd	
AAbbCCdd	

Genotipurile homozigot-recesive se identifică relativ ușor și prezintă în unele cazuri caracteristici dăunătoare, cum ar fi: plante pitice, debile, sterile, cu deficiențe clorofilene etc. Ele pot fi identificate în C_1 sau C_2 și pot fi eliminate ușor.

- *creșterea homozigoției odată cu numărul de generații consangvine*. Indicele folosit frecvent pentru aprecierea gradului de homozigoție într-o populație autopolenizată în funcție de numărul locilor luați în considerare, generația de consangvinizare și numărul indivizilor dintr-o generație de consangvinizare, este coeficientul de consangvinizare, notat cu F , care se calculează după formula:

$$F_t^n = [1 - (i/2N)^t]^n$$

În care: F = coeficientul de consangvinizare, care nu se confundă cu simbolul pentru generațiile hibride;

t = numărul generației de consangvinizare (se numerotează cu cifre romane: I, II, III,...);

N = numărul total de indivizi dintr-o generație consangvină.

Din formulă se observă că, cu cât numărul de generații, numărul de indivizi și de loci sunt mai mari cu atât coeficientul de consangvinizare este mai mic.

Exemplu de calcul:

1. Să se calculeze coeficientul de consangvinizare pentru un singur locus ($n=1$), în generația a patra în cazul unei populații de 50 indivizi ($N=50$). Înlocuind în formulă rezultă:

$$F_{IV}^1 = [1 - (1/2 \cdot 50)^1]^1 = 1 - (99/100)^1 = 0.0394 = 3.94\%$$

2. Să se calculeze coeficientul de consangvinizare pentru patru loci în generația IV, la o populație de 50 indivizi.

$$F_{IV}^4 = [1 - (1/2 \cdot 50)^1]^4 = [1 - (99/1000)^1]^4 = 0.00024$$

În acest caz se realizează o homozigoție redusă față de exemplul precedent.

3.3 IMPORTANȚA LINIILOR CONSANGVINIZATE

Așa cum s-a arătat, liniile consangvinizate au în general, vitalitate redusă, motiv pentru care nu pot fi folosite direct în producție. Cu toate acestea, la majoritatea speciilor alogame anuale, obținerea și folosirea liniilor consangvinizate în ameliorarea acestor specii, este o metodă eficientă din următoarele considerente majore:

- unele linii consangvinizate sunt valoroase datorită manifestării unor gene recesive în stare homozigotă, care controlează caractere și însușiri dorite de om, cum ar fi: port erect, tufă compactă, frunze sesile, conținut redus în alcaloizi, rezistență mare la anumiți factori de mediu, etc.;
- obținerea efectului heterozis prin încrucișarea liniilor consangvinizate și obținerea hibrizilor comerciali F_1 , care treptat tind să înlocuiască soiurile la numeroase specii de plante.

4. HETEROZISUL

Heterozisul este fenomenul opus consangvinizării, care reprezintă expresia genetică favorabilă a hibridării. Cu alte cuvinte, **heterozisul** reprezintă creșterea vigoriei hibride în F_1 în urma încrucișării între forme (linii consangvinizate, soiuri, etc.) diferite genetic. Începând cu generația F_2 , efectul heterozis scade datorită segregării.

Fenomenul de heterozis are un rol deosebit în ameliorarea plantelor alogame, el putându-se fixa la plante cu înmulțire vegetativă. De asemenea, heterozisul se manifestă și la plantele autogame (tomate, ardei, etc.).

Intensitatea heterozisului este foarte mare la încrucișarea între linii consangvinizate sau între soiuri (linii pure) și scade la încrucișarea între forme cu grad ridicat de heterozigoție.

Fenomenul heterozis afectează atât caracterele cantitative (elemente de productivitate, însușiri biochimice, însușiri fiziologice etc), cât și o serie de caractere calitative (culoarea și forma unor gene, etc.).

După natura caracterelor și însușirilor afectate se disting următoarele tipuri de heterozis (Gustafsson, 1951):

- **heterozis reproductiv** – când în F_1 sporește productivitatea de semințe și respectiv, producția de fructe;
- **heterozis somatic** – când în F_1 crește considerabil masa vegetativă;
- **heterozis adaptiv** – când în F_1 se înregistrează o creștere a rezistenței plantelor la anumiți factori de mediu; acest tip de heterozis apare mai ales la încrucișările îndepărtate.

Efectul heterozis (H_{F1}) se calculează frecvent în două moduri, și anume:

$$H_{F1} = X_{F1} - (XP_1 + XP_2)/2 \text{ sau:}$$

$$H_{F1} = X_{F1} - X_{P_{max}}$$

În care: X_{F1} = media aritmetică a populației F_1 pentru caracterul analizat;

XP_1 = media aritmetică a populației părintelui cu valoarea fenotipică maximă, notat cu P_1 .

XP_2 = media aritmetică a populației părintelui cu valoarea minimă, notat cu P_2 .

În generațiile următoare, efectul heterozis scade cu 50% de la o generație la alta datorită reducerii heterozigoților cu câte 50%.

Astfel, $HF_2 = 1/2 H_{F1}$ $HF_3 = 1/2 HF_2$ etc.

Teorii care explică fenomenul heterozis. Dintre teoriile care încearcă să explice fenomenul heterozis, cele mai acceptate sunt următoarele:

a) teoria dominanței (A.B. Bruce și B.C. Davenport, 1910) care presupune că vigoarea hibridă este atribuită acțiunii factorilor dominanți asupra creșterii și vigoriei plantelor, fiecare cuplu de alele heterozigote având o valoare fenotipică egală cu perechea homozigotă parentală dominantă, adică $Aa = AA$.

Exemplu: să acceptăm că un anumit caracter cantitativ este controlat de 4 perechi de grupe multiple și că fiecare genă activă contribuie la realizarea fenotipului cu 2 unități, iar fiecare genă neutrală cu o unitate. Rezultă că:

$$\begin{array}{ccc} P & AAbbCCdd & \times & aaBBccDD \\ & 2+1+2+1 = 6 & & 1+2+1+2 = 6 \end{array}$$

$$\begin{array}{ccc} F_1 & AaBbCcDd & \\ & 2+2+2+2 = 8 & \end{array}$$

Se observă că hibridul F_1 are o valoare fenotipică superioară părinților.

b)teoria supradomanței (G.H. Schull,1945) presupune că vigoarea hibridă în F_1 se datorează faptului că heterozigotul F_1 depășește părintele homozigot dominant. Adică, $Aa > AA$. Față de exemplul precedent, genotipul $Aa = 2.5$ unități, față de $Aa = 2$ unități și $aa = 1$ unitate.

$$\begin{array}{ccc} P & AABBCDD & \times & aabbccdd \\ & 2+2+2+2 = 8 & & 1+1+1+1 = 4 \end{array}$$

$$\begin{array}{ccc} F_1 & AaBbCcDd & \\ & 2.5+2.5+2.5+2.5 = 10 & \end{array}$$

Rezultă că, hibridul F_1 are o valoare fenotipică mai mare decât părintele homozigot dominant.

c) teoria heterozigoției (G.H. Schull, E.M. East și H.K. Hayes, 1912) se bazează pe faptul că, cu cât în F_1 se acumulează mai multe gene opuse (heterozigote), cu atât efectul heterozis este mai puternic, atingând valoarea maximă la hibridii F_1 cu heterozigoție la toți locii. Deci, efectul heterozis este direct proporțional cu numărul de gene în stare heterozigotă.

Alte teorii explică insuficient fenomenul heterozis sau se referă la cazuri limitate.

Variabilitate fenotipică înregistrată în F_1 este mai mică decât cea a liniilor consangvinizate parentale, demonstrând că acestea sunt mai sensibile la condițiile de mediu decât hibridii F_1 . Geneticienii utilizează termenul de *homeostazie* care face aluzie la menținerea unei stări de echilibru pe plan ontogenetic și filogenetic, în limitele uzuale ale fluctuațiilor de mediu.

4.1 IMPORTANȚA PRACTICĂ A HETEROZISULUI

Pe lângă rolul heterozisului în evoluția plantelor, el este considerat ca o metodă de ameliorare extrem de prețioasă și benefică pentru sporirea producției agricole. Așa se explică faptul că la numeroase specii agricole hibridii F_1 se afirmă foarte rapid și cu siguranță ei vor înlocui soiurile existente în cultură.

Cercetările efectuate la plantele autogame (Lerber, 1954) au dus la concluzia că efectul heterozis poate fi mare și foarte important în direcția heterozisului reproductiv (creșterea producției de fructe, de semințe etc.) și adaptiv, și mai puțin semnificativ în direcția creșterii masei vegetative. Odată cu descoperirea sterilității masculine și a genelor restauratoare de fertilitate, precum și a posibilităților de polenizare se asigură premise rapide de ameliorare a unor specii autogame foarte importante cum sunt: grâul, orzul, mazărea, fasolea, soia etc.

Dintre plantele legumicole, tomatele, ardeii, vinetele, castraveții, pepenii etc., manifestă un pronunțat efect heterozis. La plantele pomicele a fost semnalată o creștere a vigoriei hibrider la prun și piersic.

La unele specii de plante heterozisul din F_1 poate fi fixat în descendență prin înmulțirea vegetativă a hibrizilor din prima generație. Micropropagarea prin culturi de celule și meristeme apare ca o alternativă rapidă de fixare a heterozisului.

Fixarea heterozisului se poate realiza și pe diferite căi genetice, precum: inducerea poliploidiei, inducerea unor translocatii multiple, a unor deficiențe și inversii cromozomale, etc.

5. HIBRIDAREA TRANSGRESIVĂ (SEGREGAREA SAU VARIAȚIA TRANSGRESIVĂ)

Variația transgresivă, ca rezultat al hibridării între forme deosebite genetic are unele efecte asemănătoare cu heterozisul, în sensul că în urma încrucișării apar indivizi cu fenotipuri superioare părinților. Deosebiri între cele două fenomene, ambele proprii caracterelor cantitative sunt însă mult mai numeroase. Astfel, heterozisul se manifestă în F_1 , în stare heterozigotă și afectează toți indivizii acestei generații, în timp ce variația transgresivă apare începând cu generația F_2 , în stare homozigotă (stabilă) și afectează un număr foarte redus de indivizi; heterozisul este rezultatul combinării genelor multiple iar variația transgresivă este rezultatul recombinării genelor multiple în urma segregării acestora.

Condiția esențială pentru apariția variațiilor transgresive (pozitive sau negative) este ca formele parentale să nu reprezinte extreme ale unui caracter poligenic, adică părinții să nu fie saturați în gene active (AABBCCDD) și, respectiv gene inactive (aabbccdd). Astfel, la o hibridare cu alele active, și respectiv inactive la doi loci, apariția variațiilor transgresive are loc după schema:

P: AAbb x aaBB

F_1 : AaBb

F_2 : 1/16 AABB - este variația transgresivă pozitivă (cu toate alele pozitive), cu un fenotip superior ambilor părinți.

1/16 aabb - este variația transgresivă negativă (cu toate alele negative), cu un fenotip inferior ambilor părinți.

Între aceste fenotipuri extreme sunt cuprinși indivizi cu 3 alele pozitive (4/16), cu două alele pozitive (6/16) și cu o alelă pozitivă (4/16). Deci, raportul fenotipic de segregare este de 1:4:6:4:

La o hibridare transgresivă de tipul AABBCcdd x aabbccDD în F₁ rezultă heterozigotul AaBbCcDd cu un fenotip intermediar, iar în F₂ pot apărea variații transgresive pozitive cu o frecvență de 1/256 AABBCcDD care depășește părintele maximal și variații transgresive negative cu o frecvență de 1/256 aabbccdd, care au fenotipuri inferioare părintelui minimal.

Frecvența variațiilor transgresive este cu atât mai mare cu cât numărul genelor multiple ce determină caracterul luat în considerare este mai mic și invers. Aceasta înseamnă că la caracterele determinate de un număr relativ mare de gene trebuie să avem o descendență foarte numeroasă în generațiile de segregare.

Probabilitatea de a se încrucișa indivizi cu alele opuse, care să dea forme transgresive în generațiile segregante (F₂, backcross, etc.) depinde de numărul combinațiilor hibride. Cu cât numărul și diversitatea partenerilor de încrucișare este mai mare, cu atât șansa de a se întâlni "parteneri ideali" este mai mare. În acest scop, hibridările dialele cu parteneri foarte diferiți genetic și numeroși sunt cele mai recomandate și folosite în acest scop.

Rezumat: Determinismul genetic al caracterelor cantitative; Sisteme de gene multiple; Sisteme de gene multiple cu efecte egale și aditive (modele polimerice); Sisteme de gene multiple cu efecte inegale și aditive (modele anisomeric); Sisteme de gene multiple cu efecte opozitionale; Consangvinizarea; Efectele fenotipice ale consangvinizării; Efectele genotipice ale consangvinizării; Importanța liniilor consangvinizate; Heterozisul; Importanța practică a heterozisului; Hibridarea transgresivă (segregarea sau variația transgresivă)

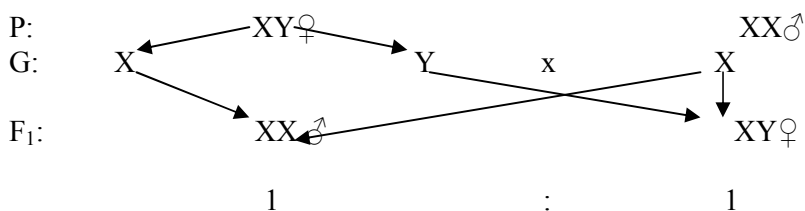
Test autocontrol:

16.	In controlul genetic al unui caracter cantitativ sunt implicate:	a) o singura gena
		b) una sau doua gene
		c) doua sau mai multe gene
17.	Daca un caracter cantitativ este controlat de doua gene, in F ₂ va apare un raport:	a) 9:3:3:1
		b) 1:4:6:4:1
		c) 63:1
18.	Depresiunea de consangvinizare apare:	a) dupa prima generatie de consangvinizare
		b) dupa a doua generatie de consangvinizare
		c) dupa a patra generatie de consangvinizare
19.	Liniile consangvine pot fi utilizate:	a) in productie
		b) in ameliorare
20.	Coeficientul de consangvinizare F, poate avea valori cuprinse intre:	a) 0 si 1
		b) 10 si 20
		c) 20 si 30
21.	Consangvinizarea poate avea efecte:	a) individuale
		b) punctiforme
		c) fenotipice si genotipice
22.	Efectul heterozis se poate mentine:	a) cel putin trei generatii
		b) o singura generatie
		c) mai multe generatii
23.	Heterozisul poate fi:	a) reproductiv
		b) adaptativ
		c) reproductiv, somatic, adaptativ
24.	Prin heterocromozomi se intelege:	a) cromozomi omologi
		b) cromozomi nepereche
		c) cromozomii sexului

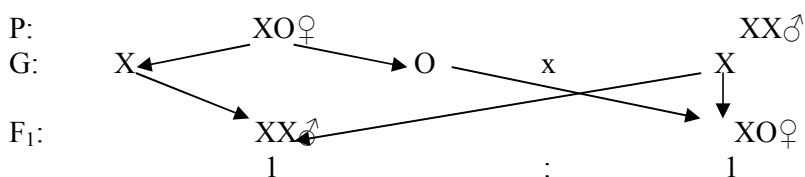
DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR

B) Sexul femel heterogametic. Se întâlnește la insectele din ordinul *Lepidoptera*, *Trichoptera*, la amfibieni, pești, păsări etc. Sexul femel heterogametic poate prezenta două tipuri, și anume: XY (tipul *Abraxas*) și XO (tipul fluture). Masculii sunt homogametici XX. Uneori, se notează femelele cu ZW sau ZO, iar masculii cu ZZ, în scopul de a atrage atenția că femela este heterozigotă.

Determinismul de tipul XY (ZW) se prezintă în felul următor:



Determinismul de tipul XO sau ZO se prezintă astfel:



3. DETERMINISMUL GENOMIAL AL SEXULUI

Este cunoscut faptul că albinele masculine (trântorii) se dezvoltă prin partenogeneză din ouă nefecundate și sunt, deci, haploizi (n). femelele (atât lucrătoare, cât și reginele) se dezvoltă din ouă fecundate și sunt diploide (2n). Nici un cromozom sexual nu este implicat în acest mecanism de determinare a sexului (caracteristic ordinului *Hymenoptera*, din care fac parte furnicile, albinele, viespile etc.). Cantitatea și calitatea hranei de care dispun larvele diploide determină apariția unor “lucrătoare sterile” sau a unei “regine fertile”. Deci, mediul influențează numai sterilitatea sau fertilitatea, fără să intervină în determinismul sexului care este controlat genetic. Proporția între femele și masculi în descendență este sub controlul reginei. Majoritatea ouălor depuse de regină (matcă) vor fi fecundate și vor rezulta femele diploide (lucrătoare) sterile. Ouăle pe care regina le alege nu vor fi fecundate și vor da naștere la masculi haploizi fertili. Față de regina diploidă (2n), la care meioza este normală, la masculii haploizi (n) meioza este anormală, fără reducerea cromatică. Astfel, în prima diviziune a meiozei (diviziunea heterotipică) toți cromozomii, în număr haploid, migrează spre un singur pol, rezultând o singură celulă haploidă (**de restituție**), iar în diviziunea următoare (diviziunea homeotipică) rezultă doar o diadă spermatidică și, ulterior gameți funcționali (fertili).

4. DETERMINISMUL GENIC AL SEXULUI

a) **Factori sexuali complementari.** La insectele din ordinul *Hymenoptera* se cunosc cel puțin două specii la care determinarea sexului mascul este sub controlul unui singur locus (o alelă haploidă sau în stare diploidă homozigotă). La viespea parazită *Bracon hebetor*, denumită frecvent *Habrobracon juglandis*, se cunosc cel puțin 9 alele la “locusul sexului”, care se notează cu $s^a, s^b, s^c, \dots, s^i$. Toți masculii sunt fie diploizi homozigoți, indiferent pentru care dintre alele ($s^a s^a, s^b s^b, s^c s^c, \dots, s^i s^i$), fie haploizi pentru una din alelele acestui locus ($s^a, s^b, s^c, \dots, s^i$). Femelele sunt obligatoriu heterozigote ($s^a s^b, s^b s^c, s^b s^i$ etc.). Acest tip de determinism genic se prezintă astfel:

P:	$s^a s^b$			s^a
	Femelă diploidă			mascul haploid
G:	s^a	s^b	x	s^a
F₁:	s^a	$s^a s^a$	$s^a s^b$	s^b
	mascul haploid	mascul diploid	femelă diploidă	mascul haploid

Printre descendenții diploizi există un mascul la o femelă ($s^a s^a, s^a s^b$); printre descendenții haploizi există doi masculi (s^a, s^b).

b) **gene transformatoare de sex.** La *Drosophila* o genă recesivă (tra) de pe cromozomul 3, în stare homozigotă transformă o femelă diploidă într-un mascul steril.

Femelele $X_{tra}X_{tra}$ seamănă morfologic cu masculii normali, cu excepția faptului că au testicule reduse. Această genă este fără efect la masculii normali, adică $X_{tra}Y$.

c) **Determinismul monogenic la microorganisme.** La unele microorganisme (*Chlamidomonas, Neurospora, etc*) tipul sexual este sub controlul unui cuplu de alele. Indivizii haploizi care posedă aceeași alelă nu fuzionează pentru a forma un zigot; indivizii cu alele diferite ale aceluiași locus sexual fuzionează și produc zigoti.

5. REGLAJUL GENETIC AL DIFERENȚIERII SEXELOR LA PLANTE

Studiul sexualității la plante are importanță pentru cunoașterea mecanismelor diferențierii organelor de reproducere al florilor, a raportului dintre sexe și a determinismului genetic al componentelor de producție (număr de flori pe plantă, număr de fructe pe plantă, greutatea medie a fructelor etc.). De asemenea, cunoașterea determinismului genetic al sexelor permite modificarea raportului între sexe în favoarea unor obiective economice, inhibarea funcționării unuia dintre sexe (de exemplu, androsterilitatea) cu impotantă în producerea de semințe hibride, transformarea genetică a plantelor monoice în dioice, etc.

La gimnosperme, majoritatea speciilor sunt dioice, în timp ce la angiosperme dimorfismul sexual (dioicitea) este un fenomen rar (circa 0,5-0,7 %), cuprinzând un număr relativ mic de specii, dintre care menționăm: *Cannabis sativa, Humulus lupulus, Bryonia dioica, Melandrium album, Urtica dioica, Fragaria elatior, etc.*, precum și speciile de *Populus, Salix, Rumex, ș.a.* Marea majoritate a angiospermelor sunt însă hermafrodite (90-93 %) și unisexual monoice (5-7 %).

După modul de fecundare, cele mai multe specii de plante sunt alogame și previn autopolenizarea prin diferite mecanisme morfo-fiziologice și genetice. Numărul speciilor autogame sau preponderent autogame este mic.

Față de cele menționate mai sus, se poate conchide că în determinismul sexului la plante sunt implicate mai multe mecanisme genetice.

6. DETERMINISMUL SEXULUI LA PLANTELE DIOICE

Determinarea genetică a sexelor la plante s-a făcut cu precădere la speciile unisexual dioice. Pe baza cercetărilor la unele specii de plante dioice s-a constatat că sexele au un determinism genetic

cromozomial, asemănător cu tipul *Drosophila* sau tipul *Abraxas*, uneori fiind implicați heterocromozomi multipli. Principalele tipuri de determinism cromozomial al sexelor sunt (După T. Crăciun și colab., 1978);

- **sexul femel XX și sexul mascul XY.** Acest mecanism se întâlnește la *Canabis sativa*, *Melandrium album*, *Brionia dioica*, *Urtica dioica*, ca și celelalte specii sau varietăți de *Humulus*, *Populus*, *Salix*, *Vitis*, *Rumex* etc. Acest mecanism este prezent și la speciile poliploide. Astfel, la specia tetraploidă de *Rumex tenuifolius* ($2n = 4x = 28$) sexul femel are structura (XX) XX, iar cel mascul (XX) XY. La specia hexaploidă de *R. acetosella* ($2n = 6x = 42$) sexul femel are structura (XXXX) XX și sexul mascul (XXXX) XY. La speciile subdioice, la care sexul mascul heterogametic produce și flori subandroice (*Vitis vinifera*, *asparagus officinalis*) pot apărea plante masculine cu structura YY viabile. Asemenea indivizi masculi apar prin autopolenizarea plantelor subandroice (XY) care segregă în raportul $1XX : 2XY : 1XY$. La alte specii dioice subandroice nu apar prin autopolenizare masculi YY, fie datorită unei mutații letale recesive, fie a deleției locusului viabilității din cromozomul Y;

- **sexul femel XX și sexul mascul XO.** Acest tip de determinism se întâlnește la genul *Dioscorea*.

- **sexul femel XX și sexul mascul XY_1Y_2 .** În acest caz, sexul mascul are $2n + 1$ cromozomi și este prezent la *Rumex acetosa*, *R. hastatulus* și *Humulus japonicus*. Planta masculă produce în meioză tot două tipuri de gameți, și anume: X și Y_1Y_2 (aceștia rămân legați).

- **sexul femel $X_1X_1X_2X_2$ și sexul mascul $X_1Y_1X_2X_2Y_2$.** Se întâlnește la *Humulus lupulus* var. *cordifolius* ($2n = 16 A + 4 X$ – femela și $2n = 16 A + 2X + 2Y$ – masculul).

- **sexul mascul XX și sexul femel XY.** Este similar cu tipul *Abraxas* și se găsește la unele forme din genul *Fragaria*.

7. DETERMINISMUL SEXELOR LA PLANTELE HERMAFRODITE ȘI MONOICE

La aceste tipuri de plante, sexul este determinat de gene majore (determinism genic). Ambele sexe sunt homogametice, iar în gameții lor se găsesc gene care favorizează feminitatea (**F**) și masculinitatea (**M** sau **m**). Pe lângă genele sexului, pot exista și alte gene care pot suprima (inhiba) apariția unui sex sau altul. Astfel, prin recombinarea genelor normale cu cele mutante (supresoare) implicate în formarea organelor florale la porumb (plantă moniocă) **C.A. Emerson** (1932) și **D.F. Jones** (1944) citați de T. Crăciun și colab., 1978, au obținut plante dioice de porumb. Ei au descoperit că în controlul genetic al sexelor la porumb sunt implicați trei loci, și anume:

- locusul I: T_S - determină panicul normal, cu flori masculine.
 $t_s t_s$ - inhibă formarea florilor masculine și determină apariția florilor female în panicule.
- locusul II: S_K - dezvoltarea normală a pistilului (carpelei).
 $s_k s_k$ - inhibă formarea pistilului.
- locusul III: B_a - dezvoltarea normală a știuletelui (inflorescenței female).
 $b_a b_a$ - inhibă formarea știuletelui.

Prin combinarea în diferite moduri a genelor sexului, la porumb se pot obține următoarele genotipuri și fenotipuri, care pot transforma porumbul în plantă dioică:

$T_S t_s S_k S_k$	- mascul	$T_S t_s b_a b_a$	- mascul
$t_s t_s S_k S_k$	- femelă	$t_s t_s b_a b_a$	- femelă

La castraveți, sexul este controlat, în general, de doi loci: St-st și M-m, ale căror combinare în diferite moduri dau naștere la următoarele genotipuri și fenotipuri ale sexului:

StStMM	- plantă monoică (masculi + femele)
ststMM	- plantă femelă
StStmm	- plantă andromonoică (masculi + femele)
Ststmm	- plantă cu flori hermafrodite

Obținerea de linii consangvinizate ginoice cu capacitate de combinare ridicată (reacție puternică în F_1 o vigoare hibridă puternică și producții mari de castraveți pe plantele ginoice (mamă), care evident au numai flori femele, producătoare de fructe.

7.1. HORMONII VEGETALI ȘI EXPRESIA SEXULUI

Expresia sexului este afectată de către hormonii vegetali la multe specii monoice și dioice. În plus, factorii de mediu, precum temperatura, fotoperioada pot induce reversia sexului, posibil datorită schimburilor la nivelul hormonal. De asemenea, au fost observate diferențe privind nivelul hormonilor endogeni între cele două sexe.

Efectul specific al hormonilor asupra sexului variază în funcție de specie. De exemplu, aplicarea giberelinei la florile femele de castravete conduce la masculinizarea acestora, iar aplicarea sa pe florile masculine conduce la feminizarea lor. Exemplele de reversie sexuală induse de aplicarea hormonilor vegetali sugerează că la multe specii cu flori unisexuate, meristemele acestora sunt sexual bipotente, iar genele implicate în determinarea sexului pot determina reversia sexuală ca urmare a schimbării nivelurilor sau raporturilor hormonilor endogeni.

Porumbul reprezintă prima plantă la care au fost izolate gene ce determină sexul. Aceste gene au fost analizate din punct de vedere genetic, biochimic și molecular, iar rezultatele acestor analize au condus la concluzia că hormonii vegetali joacă un rol foarte important în procesul determinării sexuale. De exemplu, mutațiile genelor D (dwarf = piticire) și An1 (Anther ear 1 = știulete masculinizat 1) afectează dezvoltarea sexuală a florilor din știulete. Dezvoltarea pistilului este normală, dar cea a staminelor este derepresată, fapt ce conduce la obținerea unei plante cu paniculul hermafrodit, iar știuletele masculinizat. Mutațiile acestor gene produc și o întârziere a înfloririi, o modificare a staturii plantelor, cauzând fenotipul de piticire. Studiile biochimice și genetice au evidențiat faptul că plantele mutante pentru gena D sunt deficiente în giberelină, iar aplicarea exogenă a acestui hormon conduce la revenirea plantelor la fenotipul normal.

8. FACTORI CARE INFLUENȚEAZĂ DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR

La numeroase specii de plante și animale, inclusiv la om, o serie de factori de mediu, administrarea de hormoni, anomalii în structura și numărul cromozomilor sexuali afectează determinismul genetic al sexelor, în special în ceea ce privește raportul între sexe și modul de reproducere.

Factorii de mediu. Dintre factorii de mediu, un rol important în determinismul sexelor îl au condițiile de nutriție, lumina, temperatura, umiditatea etc. (P. Raicu, 1991).

În ceea ce privește *condițiile de nutriție* s-a constatat că dacă larvele de *Bonellia virilis* (virme) sunt crescute separat devin femele, iar dacă sunt crescute împreună într-un vas cu femele adulte, ele

pătrund în trompa acestora unde trăiesc parazit și devin masculi de dimensiuni foarte mici, comparativ cu femelele. Dacă după un timp se scot din trompa femelei și sunt crescuți izolat, devin indivizi hermafrodiți. De asemenea, masculii au fost transformați în femele prin adăugarea în apa marină, în care trăiesc, a unor cantități foarte mici de HCl sau CuSO₄.

La unele specii de animale, *variația temperaturii* poate modifica determinismul genetic al sexelor. Astfel, că și stolonii și hidranții, care rezează tipul vegetativ de înmulțire, meduzele – tipul sexual de înmulțire, sunt influențate puternic de temperatura mediului. La temperaturi ceva mai ridicate ele produc numai ovule și sunt de sex femel, la temperaturi ceva mai scăzute (mijlocii) devin hermafrodite (produc atât ovule cât și spermatozoizi), iar la temperaturi relativ scăzute devin masculine (produc numai spermatozoizi).

Un exemplu de influență a *luminii* asupra schimbării sexului, chiar de mai multe ori pe an, îl reprezintă palmierul brazilian *Attalea humifera*. În anumite condiții, de densitate mare cu arbori mai înalți care umbresc, plantele devin de sex masculin, iar în cazul când plantele sunt izolate sau au aceeași înălțime cu arborii din jur, capătă sexul femel. La umbră, plantele redevin masculine.

În condiții modificate de mediu, în care sunt implicați mai mulți factori (temperatura, lumina, umiditatea etc.) la unele specii de plante apar modificări însemnate privind diferențierea inflorescențelor și raportul dintre sexe. De exemplu, la porumb, în condiții de temperaturi mai reduse, umiditate mare și luminozitate scăzută se constată apariția de flori femele în inflorescența masculă, formarea de flori masculine în inflorescența femelă, tendința de ramificare a știuletelui, sterilitatea florilor masculine etc., crescând considerabil proporția florilor femele. Aceste modificări sunt mult mai profunde la formele de porumb originar din zonele subtropicale, care sunt bine adaptate la zile scurte și temperaturi ridicate. La castraveți, în condiții de zi scurtă și temperaturi mai reduse (primăvara) apare tendința plantelor de feminizare și invers, în condiții de zi lungă și temperaturi ridicate (vara) se manifestă tendința de masculinizare. De asemenea, la cânepă, în condiții de zi scurtă crește proporția de plante femele până la 80-90% față de 50% în condiții normale.

Hormonii sexului. La vertebrate, inclusiv om, determinismul sexelor are două etape distincte: i) *etapa genetică*, care la om începe cu zigotul până la formarea gonadelor (ovare și testicule) și durează până la a 60-a zi de la fecundare. În această etapă sexul este determinat în exclusivitate de cromozomii sexului: ii) *etapa hormonală*, în care procesul de sexualizare masculină continuă sub influența hormonilor androgeni (testosteronul), iar sexualizarea feminină evoluează “pasiv” sub determinism genetic, până la formarea ovarelor (gonadelor femele). Diferențierea definitivă a sexelor se realizează în preajma pubertății, când producerea de hormoni femeli (foliculina și progesteronul) și masculi (testosteronul), capătă importanță deosebită în procesul de sexualizare.

Importanța hormonilor sexuali a fost relevată la animalele vertebrate prin administrarea de hormoni de la un sex la altul, în diferite stadii ale vieții, care au produs modificări în expresia fenotipică a sexului (T. Crăciun și colab., 1978).

Anomalii în structura și numărul cromozomilor sexuali. O serie de modificări în structura și numărul cromozomilor sexuali, cum ar fi delețiile, duplicațiile, inversiile și translocațiile, care apar la sexul homogametic (XX), non-disjuncția cromozomilor sexului în meioză etc., pot determina apariția unor genotipuri anormale ce alterează expresia fenotipică a sexului. Dintre anomaliile mai frecvente în ereditatea sexului menționăm:

- **ginandromorfismul.** La unele specii dioice (insecte, animale, om etc.) s-a observat apariția unor organisme la care unele părți ale corpului sunt de tip femel, iar altele de tip mascul. După extinderea țesuturilor femele și, respectiv masculine, pe același individ, ginandromorfismul poate fi bilateral, când anomaliile au apărut în diviziunile ulterioare (T. Crăciun și colab., 1978).

Cercetările întreprinse la *Drosophila*, începând cu anul 1919 de către **A. Sturtevant**, **T. Morgan** și **C. Bridges** au dus la concluzia că acest fenomen apare cu o frecvență de 1 : 2000 sau 1 : 3000 musculițe normale, precizând și principalele cauze care guvernează această anomalie.

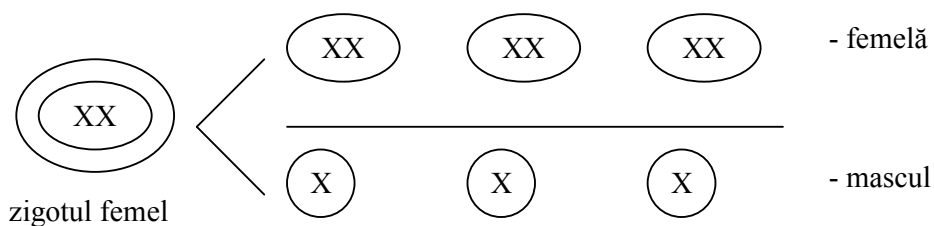
O primă cauză a ginandromorfismului bilateral (transversal sau longitudinal), la care jumătate din organism este tipic femelă și cealaltă jumătate este tipic masculă, o reprezintă pierderea unuia dintre

cromozomii X la sexul femel (XX) în una din celulele fiice ale zigotului la prima sa diviziune mitotică. În felul acesta, o celulă fiică va avea structura normală XX și prin diviziuni mitotice repetate va da naștere la celule și țesuturi de tip femel, iar cealaltă celulă fiică (care a pierdut un cromozom X sau a migrat la timp din placa ecutorială către polul celulei fiice) va avea structura XO și, prin diviziuni succesive, va da naștere la țesuturi de tip mascul (vezi figura 5.1.).

Fig. 5. 1

Apariția ginandromorfismului bilateral la *Drosophila* datorită pierderii unui cromozom X la prima diviziune a zigotului

I

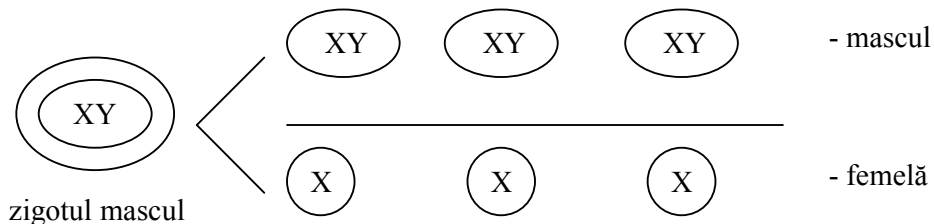


În cazul situației când pierderea cromozomului X are loc mai târziu (la o diviziune ulterioară), țesutul sau porțiunea cu structura XO (mascul) va fi mai mică și va fi integrată în corpul femelei adulte, fiind observată sub forma de *mozaicuri* cu caractere sexuale diferite genetic.

La alte mamifere și la om, ginandromorfismul bilateral apare tot la prima diviziune a zigotului la un individ mascul (XY) prin pierderea cromozomului Y cu rol masculinizant (vezi figura 5. 2.):

Fig. 5.2.

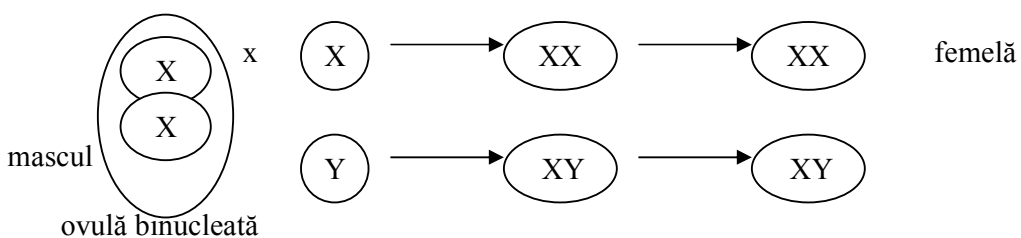
Ginandromorfismul bilateral la om și alte mamifere



O a doua cauză care generează ginandromorfismul bilateral constă în apariția de ovule binucleate datorită inhibării formării corpuscului polar în meioză. Astfel, la femelele de *Drosophila* s-au descoperit ovule cu câte doi nuceli, fiecare având un cromozom X. Prin fecundarea acestor ovule cu spermatozoizi diferiți, unul X și celălalt Y, va rezulta un organism cu o parte a sa cu structura XX (femel) și cealaltă cu structura XY (mascul), determinând apariția unui ginandromorfism bilateral (vezi figura 5. 3.).

Fig.5. 3.

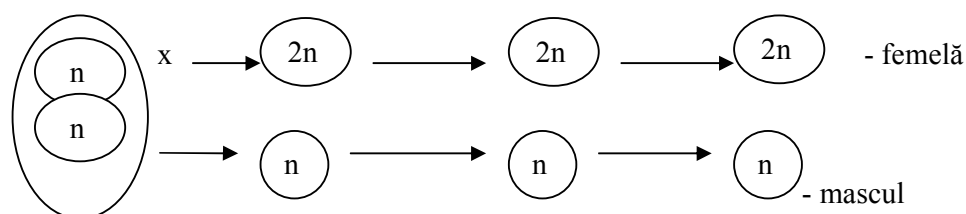
Apariția ginandromorfismului bilateral prin fecundarea unei ovule binucleate



A treia cauză care determină apariția de organisme ginandromorfe, caracteristică insectelor din *Hymenoptera*, cu determinism sexual haplo-diploid, constă tot în apariția de ovule binucleate, fiecare nucleu având n cromozomi. Prin fecundarea numai a unuia dintre nucleii acestor ovule cu n cromozomi, cu un spermatozoid haploid (n) va rezulta jumătate din corp diploid ($2n$) de tip femel și cealaltă jumătate din corp (rezultată din nucelul nefecundat) haploidă (n), de tip mascul (vezi figura 5. 4.).

Fig. 5. 4

Apariția ginandromorfismul bilateral la *Hymenoptera*



ovulă binucleată.

Non-disjuncția heterocromozomilor. Cercetările efectuate la om cu diferite afecțiuni de comportament, deficiență mintală, tulburări endocrine, steriliate, nanism, surzenie, etc., au evidențiat faptul că în majoritatea cazurilor, acestea sunt asociate cu anomalii în numărul cromozomilor. Sunt cunoscute o serie de maladii grave cu denumiri diferite, dintre care le prezentăm pe cele mai frecvente (P. Raicu, 1990, 1997):

- *sindromul Klinefelter* întâlnit la bărbații cu structurile cromozomiale XXY, XXXY, XYY sau XXXYY, care constă în deficiență mintală, tulburări endocrine, sterilitate, surzenie, etc.);

- *sindromul de "agresivitate"* descoperit recent și, care după unele constatări apare cu o frecvență de circa 1% în anumite populații. Se întâlnește la bărbații cu formula cromozomială XYY. În aparență, acești bărbați sunt normali, dar în anumite circumstanțe de stres devin agresivi și constituie adesea, un pericol social;

- *sindromul Turner* se întâlnește la femeile cu cariotip heterozomal XO (se apreciază că deficiența în cromozomul X apare în ovul). Aceste femei se caracterizează prin nanism, sterilitate, surzenie, demență etc.

Fenotipuri femele anormale apar și la structurile cromozomiale de tipul XXX sau XXXX.

Non-disjuncția cromozomilor sexului la începutul embriogenezei poate determina, așa cum s-a precizat mai înainte, mozaicuri genetice de țesuturi cu diverse caractere sexuale primare și secundare.

9. SEX - INFLUENȚARE

Genele influențate de sex pot fi situate pe orice autozom sau pe porțiunile homoloage ale cromozomilor sexului. Alelele acestor loci influențați de sex se exprimă în mod diferit la mascul și femele: aceeași alelă va fi dominantă la mascul și recesivă la femelă sau invers. Aceasta se datorează în mare parte, mediului intern care este determinat de hormoni sexuali.

Caracterele influențate de sex se găsesc cel mai frecvent la animalele superioare, care posedă un sistem endocrin dezvoltat.

Exemplu:

Gena responsabilă de formarea cheliei este dominată la bărbați și recesivă la femei (S. William, 1977).

Genotipuri	Fenotipuri	
	Bărbați	Femei
b b	cu chelie	cu chelie
b b	cu chelie	normal
bb	normal	normal

10. SEX - LIMITARE

Anumite gene se exprimă numai la unul din cele două sexe. De exemplu, taurii (la bovine) posedă numeroase gene ce controlează producția de lapte, ei pot să le transmită la fiicele lor, însă nici ei și nici fii lor nu pot exprima acest caracter. Producția de lapte este deci un caracter cu expresie variabilă, limitat numai la femele. Când penetranța unei gene la un sex este egală cu zero, acest caracter va fi limitat la celălalt sex.

Un exemplu se referă la “penajul de cocoș” (la păsări) care nu se exprimă decât la masculi.

11. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX (SEX-LINKAGE)

11. 1. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX LA TIPUL *DROSOPHILA*

O genă localizată pe cromozomul X și foarte rar pe Y se numește legată de sex. Prima genă legată de sex a fost observată la *Drosophila*; este vorba de gena recesivă (w) care determină culoarea albă a ochilor, în timp ce gena dominantă (W) determină culoarea roșie (tipul sălbatic). Masculii nu posedă decât o singură alelă legată de sex, iar această stare se numește **hemizigoție**.

Diferite încrucișări între masculi și femele cu alele pentru culoarea ochilor se prezintă astfel:

P:	Roșii		Albi	
	$X_W X_w \text{ ♀}$		$X_w Y \text{ ♂}$	
G:	X_W	x	X_w	Y
F ₁ :				
		$X_W X_w \text{ ♀}$		$X_W Y \text{ ♂}$
		Roșii		Roșii
F ₂ :	P:	$X_W X_w \text{ ♀}$		$X_w Y \text{ ♂}$
	G:	X_W	X_w	x
F ₁ :				
		$X_W X_W \text{ ♀}$	$X_W Y \text{ ♂}$	$X_W X_w \text{ ♀}$
		Roșii	Roșii	Roșii
				$X_w Y \text{ ♂}$
				Albi

În F₂ toate femelele au ochii roșii, iar jumătate din masculii au ochii roșii și jumătate au ochii albi. Raportul fenotipic global între indivizii F₂ (indiferent de sex) este de 3 roșii : 1 alb.

La încrucișarea inversă (femele cu ochi albi x masculi cu ochi roșii), rezultă:

P:	albi		roșii	
	$X_w X_w \text{ ♀}$		$X_W Y \text{ ♂}$	
G:	X_w	x	X_W	Y
F ₁ :				
		$X_W X_w \text{ ♀}$		$X_W Y \text{ ♂}$
		roșii		albi
		1	:	1

În acest caz asistăm în F_1 la o transmitere în cruce (cris – cros) a culorii ochilor; masculii moștenesc culoarea albă de la mamă, iar femelele moștenesc culoarea roșie de la tată.

În F_2 rezultă:

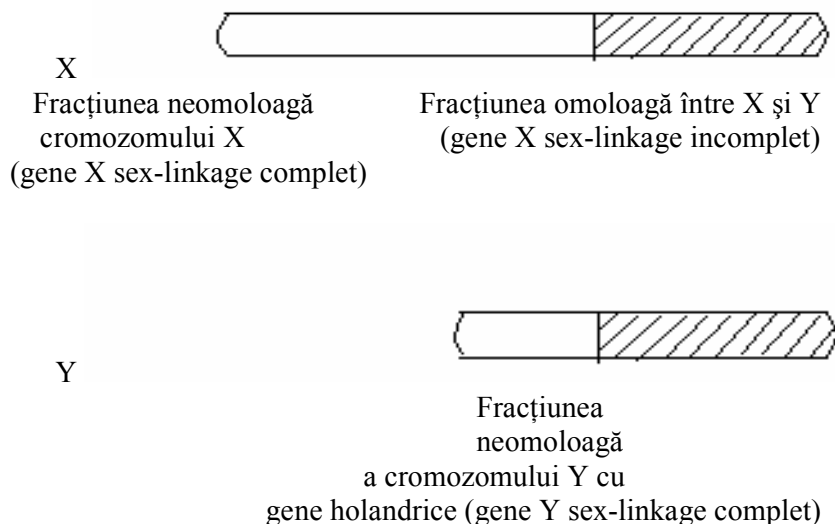
P:	roșii $X_w X_w$ ♀		albi $X_w Y$ ♂
G:	X_w	x	X_w Y
F_2 :	$X_w X_w$ ♀ roșii	$X_w Y$ ♂ roșii	$X_w X_w$ ♀ albi
			$X_w Y$ ♂ albi

În F_2 jumătate din femele și masculi au ochii roșii și jumătate au ochii albi. Raportul global de segregare este de 1 roșu : 1 alb.

Analizele hibridologice la *Drosophila melanogaster* au arătat că numeroase alte caractere sunt determinate de gene X sex – linkage și se transmit similar la descendenți ca și culoarea ochilor (ex. Mutantele: aripi tăiate, ochi lozenge, corp galben și multe altele).

Pe lângă acest tip general de ereditate a caracterelor legate de sex, există și unele tipuri particulare, determinate de existența unor gene pe cromozomul Y care nu au gene (alele) homoloage pe cromozomul X. Astfel, la om se cunosc câteva gene situate pe porțiunea neomoloagă a cromozomului Y denumite **gene holandrice**. Dintre genele holandrice studiate până în prezent menționăm gena care produce “bărbați cu părul aspru și țepos”, gena pentru “urechi păroase”, gena pentru “degete de la picior sudate prin membrană” și alte gene mai puțin studiate. În acest caz caracterele respective se exprimă numai la masculi și se transmit din tată în fiu. Aceste gene care sunt total înălțuite pe cromozomul Y sunt denumite gene Y-complet sex-linkage (T. Crăciun și colab., 1978).

Schema cromozomilor x și Y de la om cu segmentele homoloage și neomoloage ale acestora



11. 2. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX LA TIPUL ABRAXAS

Ereditatea sexului de tip *Abraxas* a fost observată și valorificată înaintea eredității de tip *Drosophila*, caracterizată printr-un mecanism total opus determinării genetice a sexelor la *Drosophila* și anume: femelele sunt heterogametice (XY sau ZW) și masculii homogametic (XX sau ZZ).

Acest tip de ereditate (prezent la păsări, fluturi, pești), la care transmiterea caracterelor în cruce (cris-cros) este similară cu ereditatea sexului la tipul *Drosophila* pentru sexul homogametic (XX) cu gene recesive homozigote, poate fi utilizată în practică cel puțin la păsări și viermii de mătase, pentru detectarea și izolarea timpurie a sexelor, folosind unele gene marker translocate pe cromozomii sexului. Ca gene marker translocate de pe autozomi pe cromozomii sexului și care se folosesc în procesul de *autosexare* se utilizează gena pentru culoarea pufului (alela B produce puf galben, iar alela recesivă b determină puf negru), gena care determină culoarea penelor (alela S produce penaj auriu și alela s produce penaj argintiu) și gene care controlează viteza de creștere a penajului (K determină creșterea rapidă, normală și k creștere lentă).

De exemplu, la încrucișarea unui cocoș din rasa Langshan cu penaj negru (X_bX_b) cu o găină din rasa Plymouth Rock cu penaj vărgat (X_BY), în F_1 se manifestă ereditatea cris-cros, femelele având penaj negru, iar masculii penaj vărgat, ceea ce permite izolarea cu ușurință a sexelor imediat după ecloziune (autosexare). Schematic această hibridare de autosexare se prezintă astfel:

P:	negru X_bX_b ♂		vărgat X_BY ♀
G:	X_b	x	X_B Y
F ₁ :	X_bX_B ♂ vărgați		X_bY ♀ negri

Separarea timpurie a sexelor la găini, permite aplicarea unui regim de alimentație diferențiat în funcție de destinația de consum. Astfel, masculii sunt recombinăți pentru broiler (creștere intensivă), iar femelele pentru producția de ouă.

La încrucișarea reciprocă (inversă) cu cocoși vărgați (X_BX_B) și femele negre (X_bY), în F_1 toți indivizii sunt vărgați, iar în F_2 segregă în raportul global de 3 vărgați : 1 negru (50% din femele sunt negre și 50% vărgate, iar masculii sunt toți vărgați).

Rezumat: Consideratii generale; Determinismul cromozomial al sexului; Determinismul genomial al sexului; Determinismul genic al sexului; Reglajul genetic al diferentierii sexelor la plante; Determinismul sexului la plantele dioice; Determinismul sexelor la plantele hermafrodite si monoice; Hormonii vegetali si expresia sexului; Factorii care influenteaza determinismul genetic al sexelor; Sex – influentare; Sex – limitare; Ereditatea caracterelor legate de sex (sex – linkage); .Ereditatea caracterelor legate de sex la tipul *DROSOPHILA*; Ereditatea caracterelor legate de sex la tipul ABRAXAS

Test autocontrol:

25.	Determinismul cromozomial al sexelor cuprinde:	a) tipul <i>Drosophila</i> si <i>Abraxas</i>
		b) tipul <i>Drosophila</i> si <i>Protenor</i>
		c) tipul <i>Abraxas</i> si <i>Fluture</i>
26.	Plantele prezinta un control genetic al sexelor:	a) cromozomial si genic
		b) genic
		c) cromozomial
27.		a) doua alele dominante

	Fenomenul de criss-cross se intalneste cand sexul homogametic prezinta:	b) doua alele recesive
		c) o alela dominanta si una recesiva
28.	In cazul castravetilor, factorii de mediu pot schimba raportul dintre sexe?	a) nu, sexul este sub control genetic
		b) da

CAPITOLUL VI

RESTRUCTURĂRI CROMOZOMIALE

Speciile de plante și animale au cromozomi cu o organizare, volum, lungime și formă bine definite. Aceste caracteristici sunt în general constante și se pastrează de la o generație la alta, datorită capacității cromozomilor de a se duplica identic la fiecare diviziune celulară. Pe fiecare cromozom există, în mod normal, câte un centromer, care ocupă o poziție fixă. De-a lungul cromozomilor se găsesc, în ordine liniară, genele, al căror număr este caracteristic pentru fiecare cromozom și sunt aranjate într-o ordine serială precisă.

Ocazional, sub influența unor factori naturali sau artificiali (fizici sau chimici), structura cromozomilor poate să se schimbe. Tipurile de modificări care afectează structura cromozomilor au fost denumite dislocații (aberații cromozomiale sau anomalii cromozomiale). La baza acestor schimbări structurale stă însușirea cromozomilor de a se fragmenta (rupe) transversal sub acțiunea anumitor agenți fizici sau chimici și capacitatea fragmentelor cromozomiale de a se reuni prin capetele lor (în punctele de ruptură) sau de a se alipi la alți cromozomi care au suferit fragmentări în lungimea lor. În felul acesta, pot avea loc rearanjări ale materialului cromozomal care, în esență determină modificări structurale în număr limitat. Fiecare cromozom poate fi afectat de una sau mai multe rupturi, iar fragmentele rezultate se pot reuni dând aranjamente noi, care generează formarea de cromozomi noi sau grupe linkage diferite și, în consecință, cariotipuri modificate.

În cadrul unui anumit cromozom, schimbările pot avea loc în același braț sau între cele două brațe. Segmentele rezultate din fragmentarea cromozomului pot fi mici, afectând numai extremitățile cromozomului sau pot fi mari, posedând și centromer. La unirea segmentelor se poate păstra succesiunea liniară a genelor sau pot apare succesiuni noi care, adesea, sunt însoțite de "efecte de poziție".

La nivelul cromozomilor omologi sau al cromatidelor acestora pot apare, de asemenea, schimbări structurale rezultate din unirea fragmentelor apărute sub influența diferiților factori dislocanți (mutageni).

La nivelul cromozomilor neomologi, schimbările de material genetic, ca urmare a unirii segmentelor dislocate din doi sau mai mulți cromozomi neomologi, pot determina modificări în structura și numărul genelor sau în succesiunea lor.

Inducerea modificărilor structurale ale cromozomilor se realizează spontan, cu o frecvență relativ mică, diferită de la o specie la alta, determinate de cauze încă puțin cunoscute și artificial, cu o frecvență mult mai mare, prin folosirea unor agenți fizici sau chimici cu rol dislocant.

1. TIPURI DE RESTRUCTURĂRI ȘI EXAMINAREA LOR

Cercetarea modificărilor structurale și morfologice la cromozomii afectați de dislocații a relevat faptul că acestea se pot grupa în principal, în două categorii distincte, și anume:

I. Schimbări în numărul de gene

II.- Schimbări în succesiunea (aranjarea) genelor.

1. 1. SCHIMBĂRI ÎN NUMĂRUL DE GENE

1. **Deleția** sau **deficiența**, care constă în pierderea unui fragment de cromozom (cu una sau mai multe gene). Asemenea nucleii, celule sau indivizi sunt deficienți pentru gena sau genele respective.

Deficiența poate afecta unul sau mai mulți cromozomi și poate avea loc în orice porțiune a cromozomului. Când se pierde un segment terminal, deleția se numește **terminală**, iar când se pierde un segment central, deleția se numește **intercalară** sau **interstițială**. Fragmentele pierdute care sunt lipsite de centromer (acentrice) și nu se atașează la alți cromozomi, care au suferit și ei rupturi, nu sunt viabile. Ele se resorb în masa citoplasmei.

Efectul delețiilor asupra vigoriei și fertilității organismului este diferit, în funcție de natura organismului și de mărimea fragmentului pierdut. Pierderea unor fragmente mari este, de cele mai multe ori, letală pentru organism sau pentru gameții în care se produc.

Delețiile sau deficiențele pot fi **homozigote** (când ambii gameți prezintă aceeași deficiență) sau **heterozigote** (când numai un gamet prezintă deficiență).

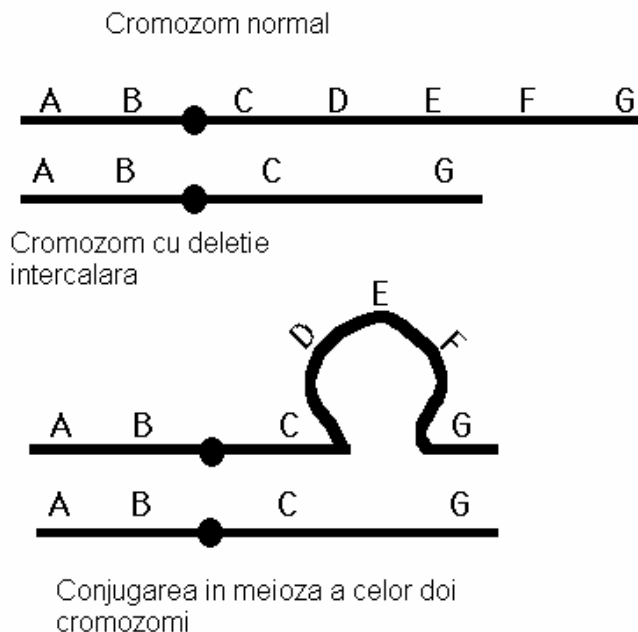
Identificarea deficiențelor se poate face prin metode citologice și genetice. Din punct de vedere citologic, nu se pot detecta delețiile în stare homozigote, ci numai în stare heterozigotă.

Delețiile terminale se pot observa la microscop prin faptul că datorită deficienței cromozomul este mai scurt (vezi fig.6.1.). În cazul deficiențelor intercalare, la împerecherea cromozomului deficient cu omologul sau normal, acesta din urmă formează o buclă în porțiunea segmentului în plus, care permite detectarea deficienței. Cu cât deficiențele sunt mai mari, cu atât ele pot fi mai ușor evidențiate citologic. Cromozomii deficienți la ambele capete formează cel mai adesea cromozomi inelari și fragmente acentrice. La organismele heterozigote, cu deficiență în cromozomul ce posedă alelele dominante se vor manifesta alelele recesive din cromozomul pereche, alelele corespunzătoare celor din fragmentul pierdut. Aceasta dă naștere la fenomenul de pseudodominanță. De asemenea, unele deleții pot fi identificate și prin modificarea raportului de segregare.

Fig. 6. 1. Deleție terminală



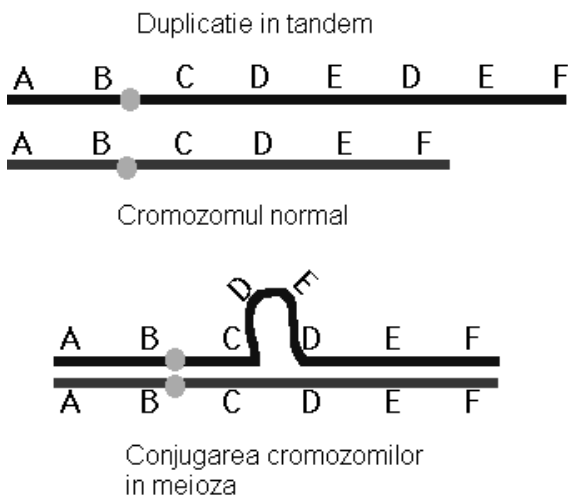
Fig. 6. 2. Deleție intercalară și conjugarea cromozomilor



2. Duplicația constă în caștigarea unui fragment de la un cromozom omolog. În urma duplicației organismul respectiv posedă una sau mai multe alele în duplicat, în același cromozom. Într-o celulă diploidă o anumită genă sau mai multe gene sunt reprezentate de două ori.

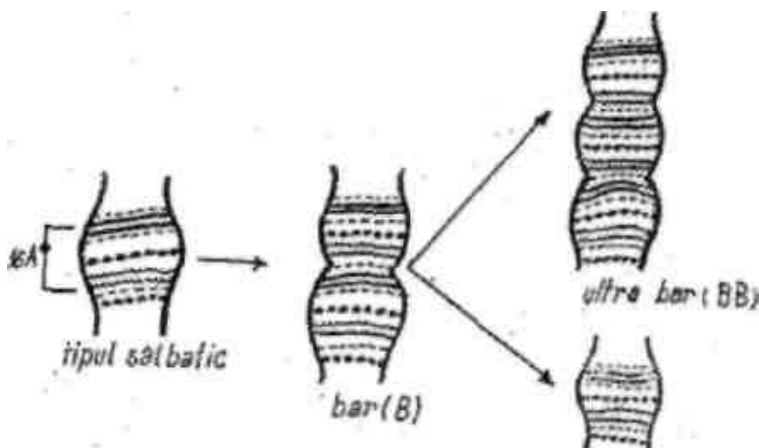
Apariția duplicației presupune ruperea simultană a doi cromozomi, deoarece segmentele cromozomale se pot uni numai cu alte segmente care prezintă cel puțin un punct de ruptură. Segmentele cromozomale nu se pot uni cu cromozomi întregi. După un anumit timp, fragmentele de cromozomi își pierd capacitatea de reunire. Segmentele de cromozomi pot fi inserate la un cromozom omolog, parțial omolog sau chiar la unui neomolog, în diferite poziții. Când segmentul de cromozom transpus ocupă poziția după segmentul identic (de exemplu GHGH), duplicația se numește în **tandem**. În alte cazuri, duplicația este dispusă în tandem invers (GHHG), nu este inserată după segmentul identic (GHIJGH) sau este dispusă în cromozomi neomologi (ABCDEFGHI - MNOPQRGHST).

Fig. 6.3. Conjugarea în meioză între un cromozom normal și omologul său duplicat



Cel mai adesea, duplicația rezultă în urma fenomenului de crossing over inegal. Din acest caz, duplicația apare într-unul din cromozomii omologi, pe când în celălalt cromozom omolog va rezulta o deficiență. Un exemplu foarte cunoscut de duplicație este la *Drosophila melanogaster*, la locusul “Bar” din cromozomul X (vezi fig.6.4.). La plante (porumb, orz, măăare, etc) se cunosc, de asemenea, mai mulți loci duplicați, în diverși cromozomi.

Fig. 6. 4.Duplicația segmentului cromozomal cu locusul “Bar” la *Drosophila*



Detectarea duplicațiilor se face atât prin studii citologice, cât și prin observații asupra efectelor fenotipice la indivizii afectați. Studiile citologice pentru evidențierea unei duplicații se realizează mult mai ușor comparativ cu deficiența terminală. Duplicațiile heterozigote mai lungi formează bucle în profaza I a meiozei (stadiul de pachinem). Trebuie stabilit dacă aceste bucle sunt determinate de o deleție (unde face bucla cromozomul normal) sau de inversiune (unde participă ambii cromozomi la formarea buclei). Organismele care posedă duplicații pot determina un fenotip nou ce poate afecta uneori, un complex de caracteristici care se transmit la urmași.

Adesea, la realizarea fenotipului nou se adaugă influența genelor adiacente (efectului de poziție), cât și schimbarea balanței genelor.

1. 2. SCHIMBĂRI ÎN SUCCESIUNEA GENELOR

1. Inversiunea constă în rotirea unui fragment distinct cu 180° în cadrul aceluiași cromozom. În acest caz, un segment de cromozom se detasează și, apoi, se reasează cu genele în ordinea inversată. Aceasta împiedică apariția crossing over-ului întrucât regiunile inversate și cele neinversate din cromozomii omologi nu au loc sinapse. Acest supresor al crossing over-ului este simbolizat cu litera C.

Când inversiunea are loc în același braț al cromozomului, fără să includă centromerul, se numește inversiune paracentrică (ABCDE.HGFI). Dacă inversiunea afectează segmente cromozomale în care este cuprins și centromerul se numește inversiune pericentrică (ABGFE.DCHI). În acest caz, ruperile pot fi apropiate de centromer la distanțe simetrice sau asimetrice. Mecanismul apariției unei inversii este prezentat în figura de mai jos (fig. 6. 5.). Inversiunea poate fi heterozigotă când afectează numai unul dintre cromozomii omologi, sau homozigotă când afectează ambii cromozomi omologi.

Cromozomii afectați de inversiunea homozigotă au o comportare citologică normală.

Fig. 6. 5. Mecanismul apariției unei inversiuni

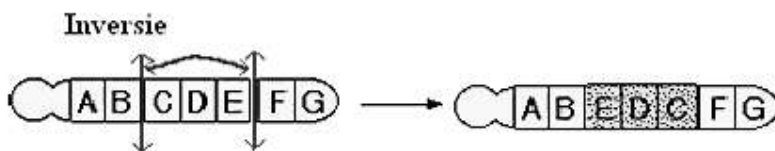
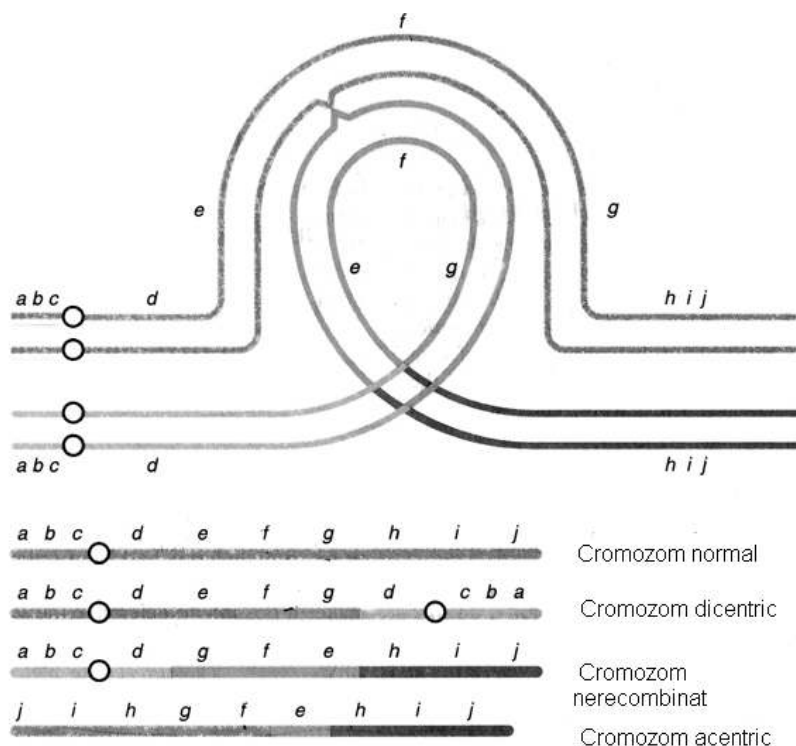


Fig. 6. 6. Conjugarea cromozomilor în cazul inversiei



În cazul inversiunii heterozigote paracentrice cromozomul afectat de inversiune face o buclă prin răsucire, în timp ce cromozomul omolog normal, formează o "bucă" corespunzătoare cromozomului inversat, în așa fel încât, alelele homoloage să ajungă în aceeași poziție (fig. 6.6.). Dacă inversiunea afectează un segment destul de mare, este posibil să apară fenomenul de crossing over în bucla ce se formează. Ca urmare, poate rezulta în urma crossing over-ului un cromozom dicentric și unul acentric.

În cursul anafazei I a diviziunii meiotice, cromozomul dicentric va forma o punte datorită tendinței de migrare a celor doi centromeri către polii opuși. Asemenea punți de inversie au fost observate la numeroase plante și animale.

Inversiunile au importanță în formarea unor cariotipuri noi și, deci, a unor forme noi, în localizarea unor gene, în menținerea unor stocuri genetice (prin inhibarea crossing over-ului), în fixarea genetică a heterozisului, etc.

2. Transpozițiile și translocațiile sunt schimbări intra- și, respectiv, inter cromozomale.

Transpoziția reprezintă transferul unui segment de cromozom dislocat, într-o altă poziție, în același cromozom. Efectul fenotipic major este marcat de "efectul de poziție".

Translocația reprezintă schimbul de segmente cromozomale între cromozomii neomologi. Segmentele de cromozomi translocate pot cuprinde o porțiune de cromozom sau chiar un braț întreg. Schimbul de segmente cromozomale se realizează în urma ruperii cromozomilor. Alipirea segmentelor de cromozomi se face numai în punctele unde au avut loc ruperi.

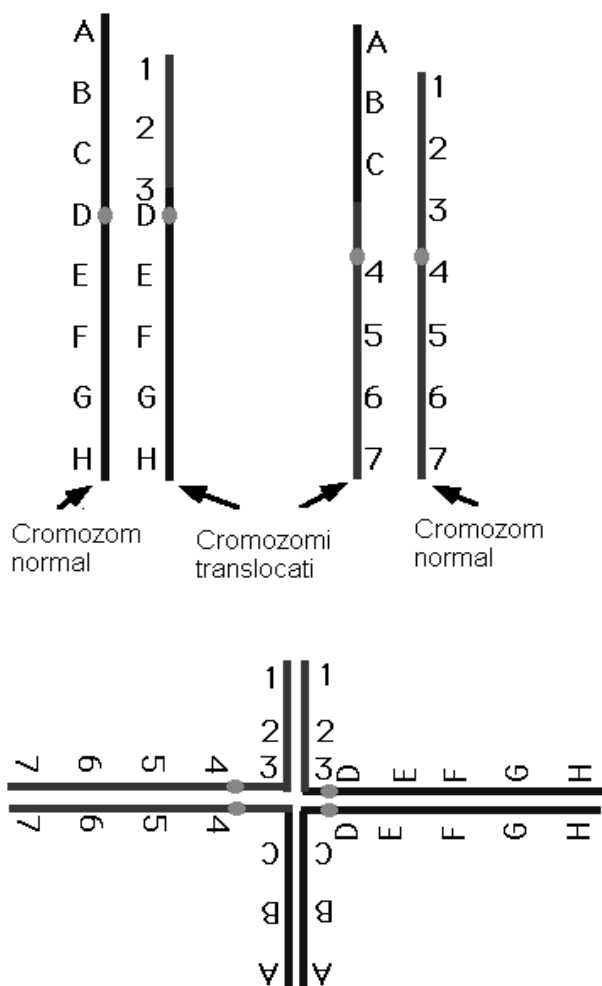
Studiile citologice au scos în evidență mai multe tipuri de translocații. Tipul cel mai frecvent îl reprezintă translocația reciprocă, care constă în schimbul de fragmente cromozomale între doi sau mai mulți cromozomi neomologi. Când schimbul de fragmente se realizează între doi cromozomi neomologi se numește translocație simplă, iar între toți cromozomii din nucleu, se numește

translocație complexă sau multiplă. Uneori, pot fi afectați succesiv, reciproc, trei sau mai mulți cromozomi - în acest caz, translocația se numește succesivă.

Translocația poate fi heterozigotă sau homozigotă, după cum sunt afectați unul sau ambii cromozomi dintr-o pereche homoloagă, prezentând aceleași translocări de segmente cromozomale.

Prin încrucișarea unor indivizi normali cu indivizi afectați de translocație reciprocă se obțin hibrizi de translocație, care în pachinem formează diferite configurații specifice cromozomilor translocați. La împerecherea, de exemplu a doi cromozomi translocați cu cromozomii omologi normali, cei patru cromozomi vor forma o figură în formă de cruce, care permite asocierea porțiunilor homoloage pe întreaga lungime a cromozomilor. În diachineză translocațiile heterozigote formează o configurație în formă de "8". Forma de inel apare în lipsa chiasmei dintre centromer și punctul de translocație (regiunea interstițială), iar forma de "8", după apariția chiasmei în regiunea interstițială.

Fig. 6. 7. Translocația heterozigotă și conjugarea meiotică



În urma meiozei, heterozigoții pentru translocație produc 50% gameți fertili (cei care conțin toate genele) și 50% gameți sterili (cei în care lipsesc gene). Prin fecundarea liberă a gameților fertili se obțin 25% indivizi homozigoți normali, 50% heterozigoți de translocație și 25% homozigoți de translocație. În descendență, indivizii homozigoți (atât cei normali, cât și cei de translocație) vor fi stabili, iar indivizii heterozigoți de translocație vor segrega în același raport de 1:2:1. Hibrizii de translocație se identifică relativ ușor citologic, prin configurațiile specifice de cercuri sau de inele și prin procentul de circa 50% polen steril.

Apariția translocației a fost studiată la *microorganisme* (*Escherichia*, *Aspergillus*, *Neurospora*), la *Drosophila*, la plantele superioare (orz, porumb, mazăre, tomate, grâu, tutun, etc), la animale și la om (relevată prin numeroase anomalii ereditare).

Prin translocație se pot transfera gene de rezistență la factorii de stress sau alte gene dorite de om. În acest scop, se aplică hibridarea cu specii sălbatice sau specii rustice, urmată de inducerea la hibridi a unor dislocații cu ajutorul unor agenți fizici sau chimici și selecția descendenților valoroși care posedă genele transferate. Metoda a dat rezultate bune la grâu, unde E.R.Sears (1956) a reușit să transfere gene de rezistență la rugina brună de la *Aegilops umbellulata* la grâul hexaploid. De asemenea, translocațiile au fost utilizate la provocarea sterilității unor specii de plante agricole și pomi fructiferi.

În cercetările de genetică teoretică unele translocații se folosesc drept markeri genetici în analizele citologice și hibridologice, la fixarea heterozisului și localizarea pe cromozom a unor gene.

La unele specii un număr mare de cromozomi au suferit translocații reciproce, formând așa-numitele sisteme de translocație. Așa este cazul celor mai multor specii de *Oenothera*. În timp ce *O. hookerii* formează în mod regulat 7 bivalenți, la *O. biennis* cei 14 cromozomi se dispun în două "inele" (unul din 6 și altul din 8 cromozomi) datorită unor translocații multiple, iar la *O. muhcata* toți cei 14 cromozomi formează un singur inel.

O importanță deosebită în ameliorarea plantelor o are inducerea translocațiilor multiple, în care sunt implicați toți cromozomii din cariotip într-un singur inel de translocație. Acest fenomen, observat la *Oenothera lamarckiana* a servit ca model pentru crearea unor genotipuri homozigote la porumb. Astfel, C.R. Bumham (1946) a sugerat faptul că și la porumb se poate obține o linie de translocație multiplă care să includă într-un singur inel toți cei 10 cromozomi din setul haploid. Prin încrucișarea acesteia cu o formă normală se obține în F_1 un hibrid care conține inelul haploid de translocație și un set haploid de cromozomi ($n = 10$ cromozomi normali). Prin autopolenizarea hibridilor F_1 de translocație vor rezulta în F_2 25 % genotipuri de translocație, 50 % heterozigoți de translocație și 25% homozigoți normali, care reprezintă o linie pură genetic (homozigotă) obținută numai în două generații.

Prin schimbul de segmente cromozomale cu ajutorul agenților dislocanți se pot obține noi grupe linkage cu gene favorabile, ducând astfel, la obținerea de soiuri noi.

Principala metodă de detectare a translocațiilor este cercetarea citologică în timpul meiozei sau mitozei, care pe baza configurațiilor specifice în diferite faze ale diviziunii celulare, permit să se precizeze localizarea, tipul și frecvența translocațiilor la diferite organisme analizate.

Rezumat: Tipuri de restructurări și examinarea lor ; Schimbări în numărul de gene; Schimbări în succesiunea genelor

Test autocontrol:

29.	Modificările ce afectează ordinea genelor în cromozom sunt:	a) duplicatiile
		b) delețiile
		c) inversiile și translocațiile
30.	Delețiile homozigote pot fi letale la speciile:	a) poliploide
		b) poliploide și diploide
		c) diploide
31.	Starea de hemizigotie poate fi întâlnită în cazul:	a) delețiilor
		b) duplicatiilor
		c) delețiilor și duplicatiilor
32.	În menținerea efectului heterozis ar putea fi utilizate:	a) inversiile
		b) translocațiile
		c) duplicatiile
33.	Toate tipurile de modificări ale structurii cromozomilor determină:	a) modificări ale numărului de gene
		b) modificări în ordinea genelor
		c) efectul de poziție

CAPITOLUL VII

VARIABILITATEA NUMĂRULUI DE CROMOZOMI

Numărul, forma și mărimea cromozomilor sunt trăsături caracteristice stabile pentru diferite specii. Acestea alcătuiesc *cariotipul*, care este un criteriu de recunoaștere.

În celule reproducătoare este prezent un singur set cromozomal (starea *haploidă*, notată simbolic cu *n*).

Numărul de bază, numărul *monoploid*, sau setul haploid al unei specii diploide, se notează cu *x*.

Schimbarea numărului de cromozomi, poate avea loc spontan, sau artificial sub acțiunea factorilor mutageni. Modificarea numărului de cromozomi, constituie una din căile evoluției speciilor, fiind corelată cu modificarea cantității de ADN din celule.

Mutațiile cromozomale numerice sunt cunoscute și sub denumirea de *mutații de genom* și sunt foarte numeroase la plante.

1. TIPURI DE MUTAȚII ALE NUMĂRULUI DE CROMOZOMI

Mutațiile la nivelul numărului de cromozomi, sunt clasificate în funcție de prezența sau absența unor cromozomi particulari sau a unor *seturi* întregi de cromozomi.

1. 1. EUPLOIDIA

Euploidia este reprezentată de starea celulară în care numărul de cromozomi corespunde cu numărul de bază sau cu un multiplu al acestuia. Indivizii afectați de euploidie se numesc *euploizi*.

După numărul de seturi cromozomale, euploidia poate fi:

- *monoploidie* și *haploidie*, atunci când numărul de cromozomi din celulele somatice este egal cu numărul de bază (*x*), respectiv cu cel gametic (*n*);
- *poliploidie*, numărul de cromozomi din celulele somatice cuprind mai mult decât două genomuri, fiind *triploizi 3x*, *tetraploizi 4x*, *pentaploizi 5x*, *hexaploizi 6x* etc.

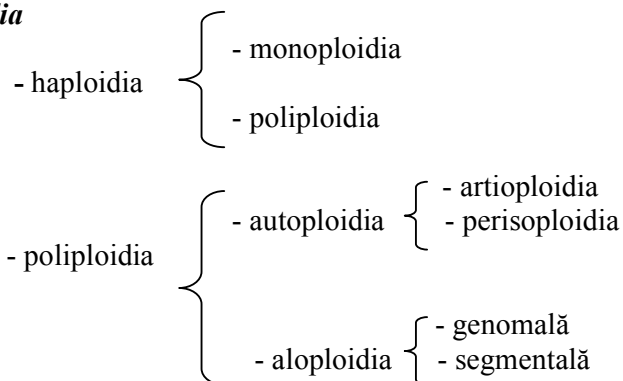
În *aneuploidie* modificarea numărului de cromozomi este restrânsă la mai puțin de un set cromozomal și afectează numai anumiți cromozomi, prin adăugarea a unu, doi cromozomi și chiar mai mulți (*polisomie*), sau pierderea unor cromozomi (*oligosomie*).

Prezentarea schematică a diferitelor schimbări în numărul de cromozomi este ilustrată în fig. 7. 1.

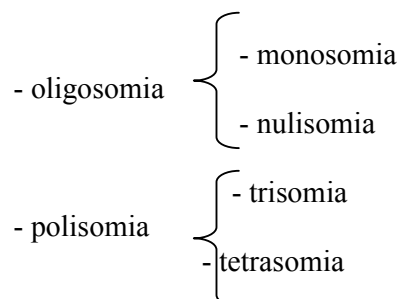
Poliploidia este fenomenul de multiplicare a numărului cromozomal de bază. *Autoploidia* rezultă în urma multiplicării setului cromozomal de bază propriu, sau în urma hibridării unor indivizi poliploizi care aparțin la aceeași specie. La autoploizi, seturile cromozomale sunt omoloage.

Fig. 7.1. Schimbări în numărul de cromozomi

1. *Euploidia*



2. *Aneuploidia*



Aceștia pot fi: **artioploizi** (cu numărul de bază multiplicat într-un număr impar: **3x, 5x, 7x** etc) sau **perisoploizi** (4x, 6x etc).

Multiplicarea numărului de cromozomi atrage după sine unele modificări ereditare, care vor fi protejate și favorizate de selecție dacă sunt utile speciei.

1. 1. 1. CARACTERISTICILE AUTOPLOIZILOR

În celulele poliploide apar o serie de modificări care sunt identificate prin investigare microscopică. Datorită numărului sporit de cromozomi, celulele sunt mai mari, diametrul celulelor somatice este mai mare și conțin un număr sporit de cloroplaste. În celula poliploidă numărul cromocentriilor nucleolari este de asemenea mai mare. Diametrul grăunciorilor de polen de la organisme poliploide, ca și numărul porilor germinativi a polenului este mai mare.

Macroscopic se disting mai multe particularități, habitusul plantelor este mai mare și mai viguros, cu număr mic de tulpini, lăstari sau ramificații, dar de dimensiuni mult mai mari. Plantele au flori mai puține dar mari și intens colorate. Aparatul foliar este alcătuit dintr-un număr mai mic de frunze, de dimensiuni mai mari și de un verde intens.

La plante, poliploidia este corelată și cu importante modificări fiziologice și biochimice. Astfel, plantele prezintă o cantitate de clorofilă și o capacitate sporită de fotosinteză, rezistență crescută la stresul climatic și agenți patogeni, manifestând, în general, o bună *homeostazie* (adaptabilitate) la condiții de mediu nefavorabile, asociate însă cu tardivitate.

Ca urmare a efectului de dozaj, plantele poliploide au o capacitate crescută de sinteză a substanțelor proteice, a glucidelor, a vitaminelor, pigmenților etc.

Fertilitatea autopolizilor, în general, este mai scăzută, mai ales la perisoploizi, deoarece apar diferite anomalii în desfășurarea meiozei. Anomaliile sunt frecvente în *profaza* I, deoarece alături de bivalenți, se formează și uni-, tri- și tetra- valenți. Multivalenții segregă dezordonat (nebalansat) în *anafaza* I ceea ce duce la formarea de gameți neechilibrați, pe acest considerent se recomandă

utilizarea plantelor poliploide numai atunci când din punct de vedere economic, interesează masa vegetativă și nu producția de semințe (plante furajere, plante ornamentale, sfeclă de zahăr etc.).

1. 1. 2. INDUCEREA ARTIFICIALĂ A POLIPLOIDIEI

Pentru crearea de poliploizi artificiali s-au pus la punct numeroase metode de modificare a diviziunii celulare.

Se pretează la poliploidizare acele specii care prezintă un număr mic de cromozomi, la care în primul rând se utilizează masa vegetativă și mai puțin semințele, precum și speciile care prezintă un grad ridicat de sterilitate, creându-se posibilitatea de a se multiplica vegetativ.

Cele mai utilizate metode de inducere a poliploidiei sunt:

- *tratamente cu șocuri de temperatură*, ridicate sau scăzute, aplicate la diferite organe, țesuturi sau celule aflate în diviziune. Șocurile de temperatură dereglează aparatul mitotic (fusul nuclear) generând *artioploidie*;
- *metoda centrifugării și a iradierii*, conduc la inhibarea fusului de diviziune, microtubulii nu se asamblează ca să formeze firele acromatice sau sunt distruși, fiind posibilă apariția unor *nuclei de restituție*;
- *metoda regenerării* se bazează pe dublarea numărului de cromozomi prin *endomitoză*, frecvent întâlnită în culturile de celule și calusurile de cicatrizare (punctul de altoire), celule care se multiplică în prezența *heteroauxinei*;
- *metoda poliembrioniei* se bazează pe predispoziția unor specii (*Zea mays*, *Secale cereale* etc.), de a forma semințe cu doi sau mai mulți embrioni, dintre care unii pot fi poliploizi;
- *metoda tratamentului chimic*, cu *colchicină* sau cu *proto-oxid de azot*, este cea mai eficientă și mai frecvent utilizată.

Metoda a fost elaborată de *A.F. Blakeslee* și *O.T. Avery* (1937) și se bazează pe acțiunea colchicinei asupra fusului acromatic din celule în diviziune. Colchicina este un alcaloid extras din bulbi de brândușă de toamnă (*Colchicum autumnale*) care datorită acțiunii ei citostatice, are capacitatea de a bloca formarea fusului și astfel, după o mitoză, celulele vor fi artioploide ($2n$ $4n$) după două mitoze celulele vor avea $8n$ cromozomi ($2n \rightarrow 4n \rightarrow 8n$).

Soluția apoasă de colchicină în concentrație de 0,1 – 1,0% poate fi utilizată pentru tratamentul semințelor, a vârfurilor vegetative și rădăcinilor plantelor, a mugurilor, a florilor sau inflorescențelor.

Sub influența colchicinei, diviziunea suferă unele modificări, fiind denumită **C-mitoză** și **C-meioză**. Colchicina, nu are acțiune aemnificativă asupra cromozomilor, clivarea centromerului și separarea cromatidelor este normală, în interfaza dintre diviziuni formându-se cromozomi cu morfologie specifică. Colchicina blochează polimerizarea tubulinei și în acest fel, formarea fusului de diviziune este anihilată.

În urma colchicinizării, în mitoză apar schimbări specifice și anume: *profaza* decurge normal. În metafază, în absența fusului de diviziune, cromozomii nu se dispun la centrul celulei, pentru a forma placa metafazică, rămânând dispersați în citoplasmă (*pseudometafază* sau *C-metafază*). La cromozomii puternic condensați, cromatidele apar desfăcute, fiind unite numai la centromer (configurația literei X, *cromozomi-X* sau *cromozomi-C*). Cele patru cromatide ale unei perechi de cromozomi rămân în aceeași celulă, formând nucelul de restituție cu un număr dublu de cromozomi.

Meioza celulelor colchicinizate se caracterizează prin absența fenomenelor sinaptice. Astfel că în *C-metafază*, cromozomii nu formează bivalenți, ei rămân ca univalenți. În *C-anafaza I*, cromatidele surori nu se separă, toți cromozomii fiind incluși într-un singur nucleu, denumit nucleu de restituție, care va avea un număr dublu de cromozomi. Meioza de acest tip, generează formarea gameților diploizi, care în urma fecundării, vor da naștere zigotilor tetraploizi.

Din semințele tratate cu colchicină, pot apărea plante noi, în totalitate poliploide. Aplicarea tratamentului la părți vegetative ale plantei, determină formarea de *himere*, țesuturi *mixoploide*, în care alternează celule diploide și poliploide.

1. 1. 3. IMPORTANȚA AUTOPLOIDIEI

Poliploidia, este un proces cu importanță deosebită, atât pentru evoluție cât și pentru ameliorarea plantelor.

În evoluție, autoploidia reprezintă o importantă sursă de variabilitate, numeroase specii având o origine poliploidă (cartoful $2n = 48$; alunele de pământ $2n = 40$; cafeaua $2n = 22, 44, 66, 88$ etc.)

A. *Müntzing* (1967), consideră că există o corelație pozitivă între numărul de cromozomi și durata vieții unei plante. Numeroase specii perene au provenit din plante anuale cu un număr mic de cromozomi. Astfel, *Sorghum sudanensis*, formă anuală, are $n = 10$ cromozomi în timp ce forma perenă, *Sorghum halepense* are $n = 20$ cromozomi; *Helianthus annuus*, cu $n = 17$, este o specie anuală, pe când *Helianthus tuberosus*, specie perenă are $n = 51$ cromozomi.

După studiile lui G. *Tischler* (1967) cu privire la repartitia pe glob a acestui fenomen se constată că frecvența poliploidiei crește spre poli și scade spre zonele calde. În regiunile arctice, speciile poliploide reprezintă 92% din floră.

Pentru ameliorarea plantelor, autoploidia constituie un material biologic de o importanță deosebită.

Poliploidia determină sporirea cantității de ADN, implicit a numărului de gene și respectiv a variabilității genetice generale de *efectul de doză*.

La plante, poliploidia este corelată cu importante modificări morfologice, fiziologice și biochimice. În consecință, în programele de ameliorare a plantelor sunt utilizate formele autoploide, valorificându-se anumite particularități, cum ar fi, vigoarea vegetativă, conținut ridicat în proteine sau în vitamine, pigmenții, precum și rezistența sporită la temperaturi excesive, secetă, boli și dăunători.

Din punct de vedere practic poliploidia are o importanță economică deosebită. Astfel, la triploizi, la care sterilitatea împiedică reproducerea sexuală, nu se formează semințe, ceea ce este deosebit de util în cazul strugurilor pentru stafide ($3n = 57$), pepenului verde ($3n = 33$), bananierului ($3n = 33$) sau ananasului ($3n = 75$), forme preferate de consumatori.

La sfecla de zahăr, triploizii au cel mai ridicat conținut de zahăr și cea mai mare producție de rădăcini.

Formele autoploide sunt importante pentru sectorul plantelor ornamentale, deoarece dimensiunile florilor sunt mai mari, pigmentația este mult mai intensă și florile se păstrează mai mult (lalele, crizanteme, garioare, narcise).

Producerea de semințe este un alt domeniu în care autoploidia are o mare aplicabilitate. Datorită segregării deficitare și încetinită, prin autoploidie se pot obține combinații hibride, cu heterozis mai stabil în succesiunea generațiilor.

1. 1. 4. HAPLOIDIA

Haploidia, este fenomenul prin care numărul de cromozomi din celulele somatice se reduce la jumătate. În celulele țesutului somatic, plantele haploide au numărul de cromozomi egal cu cel din celulele gametice.

După modul în care se formează, formele haploide se grupează în două categorii: *monoploide* și *polihaploide*.

Monoploidia reprezintă starea celulelor somatice, sau a organismelor, la care numărul de cromozomi corespunde cu numărul de bază, posedă un singur set cromozomal (x). Monoploidii, sunt haploizii speciilor diploide, posedând numărul gametic de cromozomi.

Polihaploidia reprezintă reducerea la jumătate a numărului de cromozomi din țesut somatic al plantelor poliploide. Polihaploidii, sunt haploizii speciilor poliploide.

1. 1. 5. CARACTERISTICILE HAPLOIZILOR

La nivelul structurii microscopice, haploidia corelează cu reducerea volumului nuclear și a întregii celule. Celulele somatice sunt mai mici și înglobează un număr redus de cloroplaste, acestea fiind repartizate neuniform pe unitatea de suprafață a frunzei.

Toate caracteristicile morfologice ale haploizilor sunt subdimensionate, vigoarea este scăzută, talia este redusă, frunzele sunt mai puține, înguste și de culoare mai deschisă.

Reducerea taliei și a vitalității sunt mai pregnante la haploizii proveniți de la plante alogame. Existența unui singur set cromozomal, permite manifestarea tuturor genelor recesive, atât a celor utile cât și a celor indezirabile. La plantele autogame consecințele morfologice și fiziologice nu sunt atât de acute, deoarece în starea diploidă a organismului, homozigoția este o condiție normală.

Haploizii au o fertilitate extrem de redusă, la monoploizi sterilitatea este foarte ridicată deoarece meioza se desfășoară anormal. Prezența în celulele mamă a gameților, a unui singur set cromozomal, împiedică formarea bivalentilor și repartizarea balansată a acestora în anafaza I a meiozei. Cromozomii se repartizează neregulat spre cei doi poli, producând nuclei anormali și implicit sterilitatea. Dacă în anafaza I a meiozei, întregul set de cromozomi se deplasează la un singur pol al celulei, meioza homeotipică se desfășoară normal și ca rezultat se vor forma 50% spori normali și funcționali. Probabilitatea ca migrarea să aibă loc spre un singur pol al celulei este de $(1/2)^{x-1}$, unde x este numărul cromozomi. Relația asigură cunoașterea frecvenței gameților viabili, în funcție de numărul cromozomilor. Datorită stării de hemizigoție (prezența într-un locus a unei singure alele), gameții monoploizilor sunt identici. Un grad ridicat de sterilitate se înregistrează și la organisme polihaploide, provenite din indivizi cu grad ridicat de poliploidie, datorită formării de univalenți, trivalenți etc. Prin formarea bivalentilor, materialul genetic se poate distribui echilibrat în gameți și astfel aceștia vor fi funcționali.

1. 1. 6. POSIBILITĂȚI DE OBTINERE A HAPLOIZILOR

Haploidia este condiționată de genotip, astfel la *Gossypium barbadense* variază în limitele 0,025-0,037%, la *Datura stramonium* este de 0,018%, la *Zea mays*, de 0,05%, la *Anthirrhinum majus* este 0,01%, la *Triticum monococcum* este de 0,05%, la *Triticum aestivum* de 0,025% etc.

Posibilitățile de obținere a haploizilor sunt:

1. *androgeneza*, atunci când fecundarea este simplă (embrionii se formează fără fecundare, o singură spermă polinică fecundă nucleul secundar, din care rezultă endospermul).

2. *ginogeneza*, prin *partenogeneză*, rezultă embrioni din oosfera nefecundată și *apogamie*, atunci când embrionul haploid se dezvoltă din *sinergide* sau *antipode*. Haploizii se pot forma ca urmare a fenomenului de *poliembrionie*, adică apariția de embrioni gemeni, din care unul poate fi haploid.

Un exemplu de organism haploid natural obținut prin *partenogeneză* (ginogeneză) este trântorul, masculul speciei *Apis mellifera*, cu $2n = 16$ cromozomi (starea diploidă este $2n = 32$).

1. 1. 7. INDUCEREA ARTIFICIALĂ A MONOPLOIDIEI

Căile de producere a formelor monoploide pot fi *in vivo* cât și *in vitro*.

Metodele utilizate pentru inducerea *in vivo* a haploidiei sunt:

- *iradierea polenului* cu radiații ionizante sau ultraviolete în vederea distrugerii unei spermă, ce duce la formarea de haploizi dintr-o oosferă nefecundată;

- *polenizarea întârziată și tratamentele cu șocuri de temperatură* imediat după polenizare;

- *îndepărtarea staminelor florale*, fapt ce împiedică polenizarea normală;

- *inactivarea nucleilor spermatici* prin tratamente cu diferite substanțe chimice, care favorizează o dezvoltare partenogenetică;

- *inhibarea creșterii tubului polinic* prin tratament cu *hidrazida maleică*.

Metodele de inducere *in vitro* a haploidiei sunt:

- *culturi de antere*, din grăunciori de polen imaturi sau în *culturi de ovule* nefecundate, pe medii artificiale.

Tehnica de obținere a în culturi de antere sau ovule nu este aplicabilă la toate organismele, deoarece există unele specii refractare la aceste procedee.

O tehnică deosebit de avantajoasă este *metoda bulbosum*, în care forma diploidă de orz (*Hordeum sativum*) a fost polenizată cu polen de la forma sălbatică *Hordeum bulbosum*. În succesiunea diviziunilor mitotice cromozomii speciei *Hordeum bulbosum* au fost eliminați, dând naștere unui embrion haploid. Procesul de haploidizare este aproape similar cu fenomenul de incompatibilitate genetică între seturile cromozomale ale celor două specii, chiar dacă fecundarea are loc. Prin utilizarea metodei *bulbosum* s-au obținut rapid forme homozigote, fiind posibilă introducerea în cultură a numeroase varietăți noi de orz. Metoda se pretează și la alte specii.

1. 1. 8. IMPORTANȚA HAPLOIDIEI

În studiile de citogenetică, haploizii asigură studierea fiecărui cromozom în parte, evidențiindu-se astfel unele duplicații, precum și comportamentul cromozomilor în meioză, se pot studia relațiile sinaptice dintre ei. Pe baza împerecherii, sub formă de bivalenți sau multivalenți, s-a stabilit originea poliploidă a unor specii.

Importanța genetică a monoploizilor constă în manifestarea integrală a tuturor genelor, inclusiv a celor recesive. Din acest punct de vedere, monoploizii constituie un material ideal pentru studiile de mutageneză. La monoploizi, mutațiile apărute pot fi decelate chiar în anul producerii lor, deoarece se manifestă în fenotip toate genele, inclusiv cele recesive, contrar celor de la poliploizi, care trebuiesc căutate în generațiile segregante.

Prin dublarea numărului de cromozomi se obțin linii izogene, superioare celor cosangvine.

1. 1. 9. ALOPLOIDIA

La formele aloploide are loc multiplicarea seturilor de cromozomi provenite prin hibridare interspecifică sau intergenerică. Formele aloploide se pot realiza prin două sisteme:

- prin încrucișarea dintre specii diploide cu specii poliploide, care au cel puțin câte un genom omolog, formând hibridi îndepărtați cu grad foarte diferit de fertilitate sau;
- prin încrucișarea între specii îndepărtate genetic, urmată de dublarea numărului de cromozomi la hibridii F_1 , rezultă *amfidiploizi* sau *amfiploizi*.

1. 1. 10. IMPORTANȚA ALOPLOIDIEI

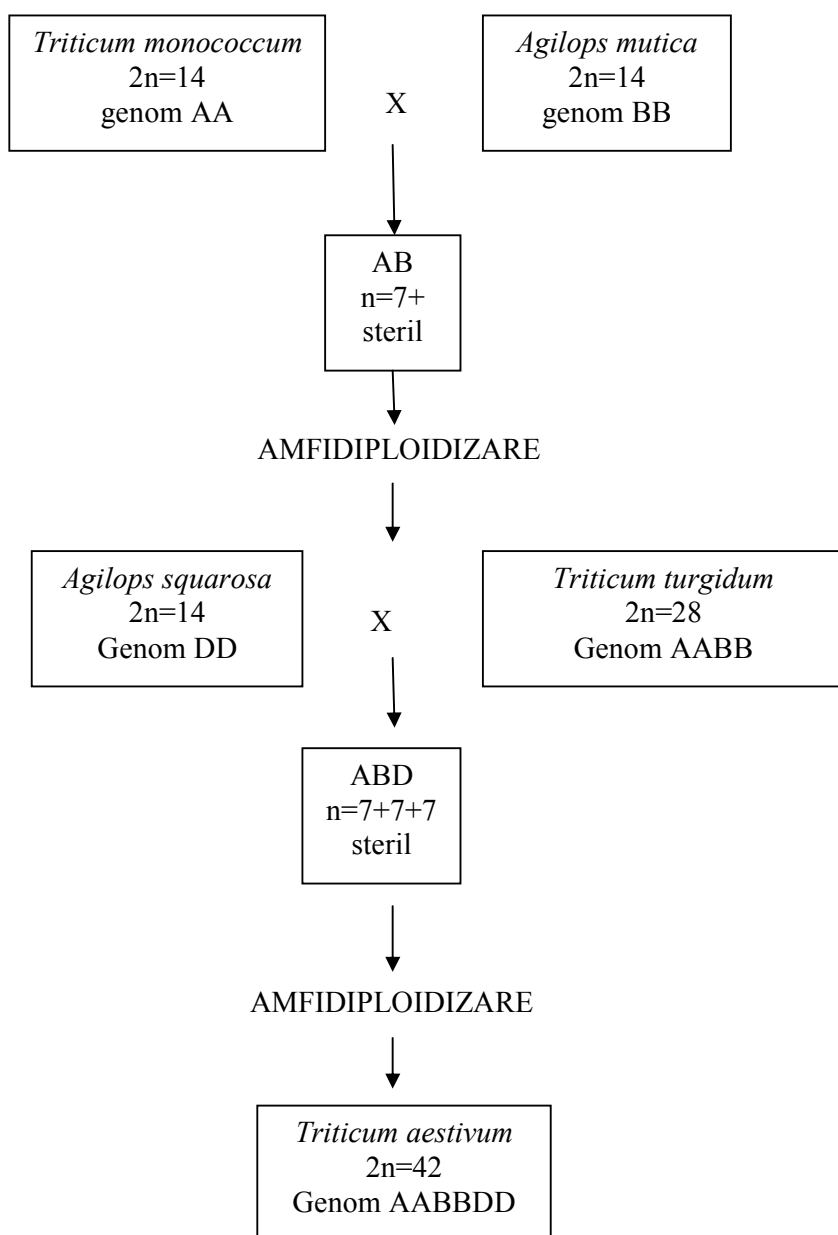
Pentru natură, aloploidia, în special cea genomală, este deosebit de importantă, asigurând evoluția speciilor.

Un poliploid natural, este grâul comun (*Triticum aestivum* $2n = 6x = 42$). Prin studiul speciilor sălbatice diploide sau tetraploide, cu numărul de bază, $x = 7$, s-a reconstituit evoluția grâului. În meioză, în celulele mamă se formează 21 de bivalenți, fiecare cromozom fiind reprezentat de un singur omolog. Formarea bivalenților este controlată de gena **Ph**, situată pe brațul lung al cromozomului **5B**. Cu toate că specia este hexaploidă, comportamentul "diploid", simulat de formarea bivalenților, este asigurat de gena **Ph**.

Grâul comun este originar în trei specii diploide diferite și cu genomuri diferite, AA, BB și DD (vezi figura 7. 2.).

Fig. 7. 2.

Diagrama evoluției posibile a grâului hexaploid (*Triticum aestivum*)



Originea aloploidă a fost stabilită pentru multe alte specii. *Prunus domestica* este un aloploid între *Prunus spinosa* ($2n=4x=32$) și *Prunus cerosifera* ($2n=2x=16$). Alte exemple de specii aloploide: *Nicotiana tabacum*, $2n = 48$ (*n. silvestris*, $2n = 24$ x *N. tomentosiformis*, $2n=24$), *Brassica napus*, $2n = 38$ (*B. oleracea*, $2n = 18$ x *B. capestris*, $2n = 20$) etc.

Amfiploidii manifestă atât caracteristicile celor două forme parentale, cât și a poliploizilor, manifestând homeostazie ridicată.

Amfiploidia este o cale deosebit de facilă pentru obținerea de specii noi, artificiale. O primă încercare în acest sens este a lui **G.D. Karpechenko** (1928), care a obținut un hibrid fertil între varză (*Brassica oleracea*, $2n = 18$) și ridiche (*Raphanus sativus*, $2n = 18$). Hibridul obținut a fost însă steril.

1. 2. ANEUPLOIDIA

Aneuploidia, este fenomenul prin care modificarea numerică afectează numai anumite perechi omologe de cromozomi, adică în nucleul celulelor există în plus sau în minus, unul sau mai mulți cromozomi.

Dacă într-un cariotip alături de numărul diploid de cromozomi ($2n$), se află unu sau mai mulți cromozomi, aneuploidia este de tip *hiperploid (polisomie)*. Dacă din garnitura diploidă se pierde unul sau mai mulți cromozomi, aneuploidia este de tip *hipoploid (oligosomie)*.

Cu toate că aspectele genetice și citogenetice ale fenomenului de aneuploidie sunt diferite, în esență toate au cauze comune și anume:

- *non-disjuncția* cromozomilor în mitoză sau meioză și, în consecință, repartizarea inegală a materialului genetic la celulele fiice;
- formarea *trivalenților* și *univalenților* în loc de bivalenți normali;
- apariția *aberațiilor* în *structura* unor cromozomi;
- absența *sinapsei* sau *sinapsis parțial* între unii cromozomi, fenomen mai frecvent observat la cromozomii lungi.

1. 2. 1. TIPURI DE ANEUPLOIDIE

Hiperploidia sau **polisomia**, se întâlnește în situația când, pe lângă perechea de cromozomi omologi se găsește un cromozom în plus, adică $2n + 1$, fenomen numit *trisomie* sau, când unei perechi de cromozomi i se alătură doi cromozomi, $2n + 2$, fenomen denumit *tetrasomie*.

Trisomia a fost evidențiată, pentru prima dată, de **A.F. Blakeslee** (1921) într-o cultură de *Datura stramonium*, $2n = 24$, a căror plante posedau habitus modificat, viguroase și cu frunze deosebite de celelalte. **J. Belling** (1924), analizându-le citologic constată existența unui cromozom în plus, adică $2n=24+1$, față de forma *euploidă* normală.

După tipul extracromozomului și a configurațiilor din profaza I, există mai multe clase de trisomie:

- *trisomia primară*, atunci când în meioză extracromozomul se comportă asemănător cu cei doi omologi la care se atașează, formând o configurație în lanț, un *trivalent*. Dacă se formează un *extravalent*, la două perechi de cromozomi, fenomenul se numește *trisomie primară dublă* ($2n+1+1$);
- *trisomia secundară*, extracromozomul este un *izocromozom* (*izocromozomul* se formează ca urmare a diviziunii transversale și nu longitudinale a centromerului), care în meioză, în zigonem, formează configurații de inel;
- în *trisomia terțiară*, extracromozomul este un cromozom translocat, care în meioză împreună cu celelalte două perechi, formează un lanț.

Tetrasomia a fost observată pentru prima oară tot la *Datura stramonium*. În urma fecundării unui ovul $n+1$ cu polen $n+1$, rezultă un tetrasom. *Polisomia* poate afecta oricare pereche de cromozomi, atât la organismele diploide cât și la cele poliploide. În general, tetrasomia nu are efecte negative asupra organismului vegetal.

Și la om sunt cunoscute câteva maladii genetice determinate de fenomenul de trisomie autozomală sau heterozomală.

Sindromul Down sau *trisomia 21*, a fost primul exemplu de trisomie la om, descrisă în 1866 de către **Down**. Persoanele afectate au expresia feței de tip mongoloid, însoțită de anomalii cardiace, întârziere minată, talie redusă, greutate corporală mică.

Sindromul Klinefelter (XXY) sau trisomia pentru cromozomii sexului, determină la persoanele afectate o slabă dezvoltare sexuală, atrofie testiculară, ginecomastie, retardare mintală și sterilitate.

Există și tipuri de sindrom *Klinefelter* cu constituția **XXYY** sau **XXXY**. Adiția suplimentară de heterozomi amplifică severitatea simptomelor, manifestări antisociale și comportament agresiv, anomalii ale personalității, înălțime foarte mare.

Hipoploidia sau **oligosomia** reprezintă starea unor celule sau a unor organisme care au pierdut un cromozom din garnitura normală, fenomen denumit *monosomie* ($2n-1$) sau o pereche de cromozomi, fenomen denumit *nulisomie* ($2n-2$).

Hipoploidia se întâlnește foarte rar la speciile diploide. Organismele monosomice sau nulosomice nu sunt viabile dacă cromozomul care lipsește este de importanță vitală. Șansa de supraviețuire o au numai speciile poliploide, ca urmare a fenomenului de compensare, determinat de efectul de doză. *Monosomia* pentru cromozomul **X**, sau *sindromul Turner*, se întâlnește la specia umană. Femeile cu un singur cromozom **X** nu posedă cromatină sexuală, au statură mică, gât plat, dezvoltare sexuală rudimentară, întârziere mintală.

La mamifere, formele trisomice sau monosomice pentru heterozomii **X**, pot fi depistate citologic prin intermediul cromatinei *sexuale Barr*.

1. 2. 2. CARACTERISTICILE ANEUPLOIZILOR

În general, vitalitatea și fertilitatea aneuploizilor, este mai redusă.

Gametul femel tolerează mai bine aneuploidia, gameții masculi aneuploizi nu sunt viabili, aneuploidia transmițându-se pe linie maternă.

Ca urmare a efectului de doză, polisomii prezintă unele particularități, specifice cromozomilor suplimentari. La oligosomi, ca urmare a reducerii dozei de material genetic, apar caracteristici noi față de formele inițiale $2n$, fapt care permite stabilirea importanței fiecărui cromozom.

1. 2. 3. IMPORTANȚA ANEUPLOIZILOR

Din punct de vedere teoretic, aneuploizii asigură identificarea rolului genetic al unor cromozomi, legăturile dintre cromozomi, precum și rolul diferitelor gene în expresia fenotipică a unor caracteristici. Stabilirea rolului pe care-l au cromozomii, prin absența lor din garnitura cromozomală, este dificil de realizat, deoarece fiecare cromozom are o semnificație bine conturată în supraviețuirea gametului sau a individului.

Deși organismele aneuploide nu au importanță economică directă, cercetările în acest domeniu au luat amploare, datorită rolului lor în procesul de ameliorare a plantelor.

O realizare deosebită în acest domeniu a avut-o **E.R. Sears** (1953), care a reușit să creeze 21 de linii nulisomice la soiul de grâu *Chinese Spring*, stabilind astfel rolul genetic al fiecărui cromozom. Un caracter, dacă este controlat de o genă plasată pe un anumit cromozom, efectele acestei gene pot lipsi la plantele nulisomice pentru perechea respectivă de cromozomi.

După obținerea tuturor liniilor nulisomice și precizarea rolului genetic al cromozomilor s-a putut trece la substituirea acestora dintr-un genom, cu cromozomi aparținând altui genom, de la altă specie. Metoda permite înlocuirea unuia sau mai multor cromozomi din genomul diploid a unei specii, cu un număr egal de cromozomi omologi, proveniți de la o altă specie, realizându-se astfel genotipuri cu o valoare de recombinare îmbunătățită.

În liniile de substituție intraspecifică, pot fi fixate anumite caracteristici valoroase de la *donori* cu gene particulare valoroase în *receptori* cu structură genetică deficitară pentru o genă (rezistența la boli și la condiții nefavorabile de mediu).

Lucrările lui **B.C. Jenkins** (1956), privind aditia și substituția de cromozomi de la secară (specie donor), purtătoarea unor caractere valoroase (rezistența la ger, la soluri acide și dăunători) la grâu (specie receptor), a dus la obținerea de linii de substituție cu $2n=42$ cromozomi, dintre care 40 de cromozomi ai grâului și doi cromozomi de la secară, purtători de gene valoroase.

Linii de aditie la grâu au fost obținute de **J.G. O'Mara** (1941), prin încrucișarea amfidiploidului *Triticale* ($2n=56$) cu *Triticum aestivum* ($2n=42$). În descendență au fost identificați indivizi cu $2n = 42 + 2$, din care 42 de cromozomi proveneau de la grâu și doi cromozomi de la secară.

Utilizarea aneuploidiei în ameliorarea plantelor are și unele dezavantaje, deoarece, uneori specia receptoare pierde gene valoroase, situate pe cromozomul substituit, iar o dată cu încorporarea cromozomului străin, pe lângă gene valoroase, pot fi incluse și unele gene nedorite.

Numărul de cromozomi, este o caracteristică de bază a tuturor organismelor.

Întregul genom (euploidie), sau numai unele perechi de cromozomi (aneuploidie), pot fi modificate de variațiunile numerice ale cromozomilor.

Multiplicarea numărului de cromozomi duce la formarea de genotipuri poliploide. Autoploidia, se manifestă în cazul când, numărul propriu de cromozomi este multiplicat. La plante, frecvent este întâlnită autoploidia și aproape este inexistentă la animale. Poate apărea în mod natural sau poate fi indusă în urma tratamentului cu colchicină sau cu alți agenți care influențează diviziunea celulară.

Aloploidia apare prin încrucișarea a două specii diferite, urmată de dublarea numărului de cromozomi. Această tehnică își găsește aplicabilitatea în ameliorarea plantelor cultivate, deoarece permite crearea unor specii noi, care să îmbine proprietățile ambelor forme parentale.

Plantele poliploide prezintă unele caracteristici utile din punct de vedere economic, mai ales atunci când prezintă interes masa vegetativă.

Aneuploidii au avut de asemenea un rol important în evoluția speciilor. Monosomii ($2n-1$) și trisomii ($2n+1$) permit precizarea rolului unor cromozomi și întocmirea hărților cromozomale.

Rezumat: Tipuri de mutații ale numărului de cromozomi ; Euploidia; Caracteristicile autoploizilor ; Inducerea artificială a poliploidiei; Importanța autoploidiei; Haploidia; Caracteristicile haploizilor; Posibilități de obținere a haploizilor; Inducerea artificială a monoploidiei; Importanța haploidiei; Aloploidia; Importanța aloploidiei; Aneuploidia; Tipuri de aneuploidie; Caracteristicile aneuploizilor; Importanța aneuploizilor

Test autocontrol:

34.	Prin numărul de baza X, se înțelege:	a) numărul de cromozomi din celulele somatice
		b) numărul de cromozomi din celulele sexuale
		c) numărul haploid de cromozomi ai speciei ancestrale
35.	Variațiile numerice ce afectează întregul set de baza sunt:	a) poliploidia și monoploidia
		b) aneuploidia
		c) polisomia
36.	În cazul unei specii cu $2n=22$, câți trisomici diferiți se pot forma?	a) 22
		b) 11
		c) 21
37.	Fertilitatea este mai scăzută în cazul:	a) perisoploizilor
		b) artioploizilor
		c) autopoliploizilor
38.	<i>Prunus domestica</i> este o specie:	a) autopoliploida
		b) monoploida
		c) aloploida
39.	Hibridul interspecific este:	a) steril
		b) fertil
		c) fertil, după dublarea numărului de cromozomi
40.	În procesul de producție prezintă importanța formele:	a) aneuploide
		b) monoploide
		c) poliploide
41.	Linii izogene pot fi obținute din :	a) poliploizi
		b) monoploizi
		c) poliploizi

CAPITOLUL VIII EREDITATEA CITOPLASMATICĂ (EXTRANUCLEARĂ)

1. CAZURI DE EREDITATE CITOPLASMATICĂ

Descoperirile genetice fundamentale păreau să confirme ipotezele multor geneticieni că substratul material al eredității ar fi localizat exclusiv în nucleu, care ar deține astfel un rol singular în ereditate.

Ideea că citoplasma în deplinește totuși un anumit rol în ereditate nu a fost însă abandonată, mai ales ca o serie de date faptice dovedeau acest lucru. Astfel, în anul 1902, botanistul C. Correns remarcase la planta *Mirabilis jalapa* apariția unor ramuri anormale, cu frunze albicioase sau având porțiuni verzi, ce alternau cu porțiuni albe, lipsite de cloroplaste-forma albomaculata. Efectuând polenizări între florile de pe ramurile normale și florile de pe ramurile cu frunze anormale, Correns ajunge la o serie de date interesante (tab 1.).

Tabelul 8. 1.

Ramuri cu flori masculine		Ramuri cu flori femele	Descendenți F1
F r u n z e	Verzi	Verzi	Verzi
		Albe	Albe
		Pătate	Verzi,albe,pătate
	Albe	Verzi	Verzi
		Albe	Albe
		Pătate	Verzi,albe,pătate
	Pătate	Verzi	Verzi
		Albe	Albe
		Pătate	Verzi,albe,pătate

Rezultă din tabelul 1 că segregarea descendenților nu se face conform proporțiilor mendeliene, aceștia semănând cu formarea maternă, cu excepția florilor de pe ramuri cu frunze pătate, care, independent de forma masculină, determină apariția unor descendenți cu frunze normale, albe și pătate.

Un alt caz a fost descris de către Gregory (1915) la *Primula sinensis*, la care florile de pe ramuri cu frunze verzi produc numai descendenți verzi, cele de ramuri cu frunze albe produc numai descendenți albi, iar cele de pe ramuri cu frunze variegat-descendenți verzi, albi sau pătați.

Explicația fenomenului, care ulterior a mai fost confirmat și la numeroase alte plante (peste 20 de genuri), constă în aceea că sacul embrionar matern conține “primordiile” cloroplastelor, în timp ce grăunciorii de polen, fiind mult mai mici, sunt aproape total lipsiți de citoplasmă și de primordii ale cloroplastelor, așa încât zigotul moștenește tipul de cloroplaste al florilor femele. Cloroplastele și deci colorația frunzelor sunt transmise pe cale extranucleară, numai pe baza posibilităților ereditare de care dispune citoplasma.

În sfera aceluiași fenomen de ereditate citoplasmatică pe linie maternă se încadrează și diferențele care apar la încrucișări între anumite animale sau plante, în funcție de forma maternă.

La plante, din încrucișarea reciprocă dintre două specii de mușchi, *Funaria hygrometrica* și *F. mediterranea*, deosebite destul de mult prin formă și mărimea frunzelor, prin tipul organelor de reproducere ș.a. au rezultat hibrizi asemanători mult mai mult cu genitorul matern decât cu cel patern.

Fenomenul de transmitere a unor caractere prin intermediul citoplasmei materne se numește *matroclinie*.

Faptul este explicabil având în vedere că celulele sexuale femele conțin o cantitate mult sporită de citoplasmă, în comparație cu celele masculine, ceea ce asigură transmiterea ereditară a unor anumite însușiri. În afară de aceasta, la mamifere, organismul matern poate influența dezvoltarea hibridului în cursul vieții intrauterine. De asemenea, la plantele superioare, zigotul începe să se dividă imediat după fecundare, formând embrionul încă din perioada când acesta se afla în organismul matern. Pe de altă parte, la Angiospermae endospermul, depozitul substanțelor nutritive de rezervă ale embrionului, este format din celule triploide ($3n$), cu două garnituri de cromozomi ($2n$) de origine maternă și numai o garnitură (n) de origine paternă, ceea ce face ca influențarea endospermului să fie mai pronunțată pe linie maternă. Esențial însă în ereditatea extranucleară este faptul că în citoplasmă se localizează genomuri specifice (cloroplastic, mitocondrial) sau factori genetici necromozomiali, cu aparat genetic propriu, care au rol direct în ereditate.

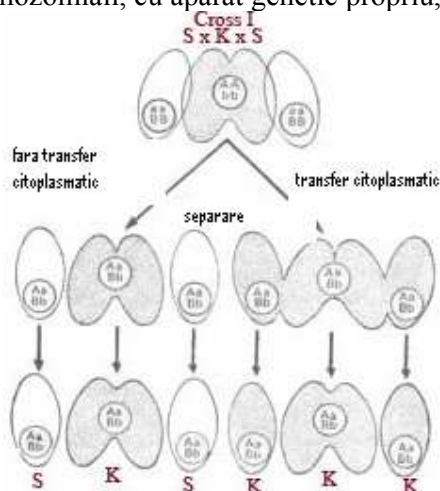


fig 8.1

La ciuperci, la care fenomenul eredității citoplasmice este destul de des întâlnit, s-a reușit, într-o serie de cazuri, inducerea artificială a unor mutante care se pot transmite pe cale extranucleară. La drojdia de bere apar frecvent mutante cu defecte de respirație, transmise prin mitocondrii. La *Neurospora crassa* au fost descrise mutații care se moștenesc pe linie maternă, prin gene mitocondriale.

Influența genelor citoplasmei la nimale, carora le lipsesc plastidele, s-a pus în evidență la *Lymantria dispar*, la care plasma spermei și ovulei se deosebește la diferite rase. În cazul în care diferențele sunt mici sau lipsesc are loc o segregare obișnuită, mendeliană, a genelor; dacă însă deosebirile sunt mari, atunci citoplasma ovulei fecundată determină apariția în proporții excedentare a unor fenotipuri și, deci, modificarea raporturilor normale de segregare (Goldschmidt și col., 1924).

O serie de fenomene de ereditate extranucleară se datoresc prezenței în citoplasma celulelor a particulelor simbiotice de tip infecțios (Kappa, Lambda, Miu etc.) de care s-a vorbit mai sus (fig. 8.1).

2. ANDROSTERILITATEA CITOPLASMATICĂ

Prin citoplasmă, la unele plante se transmite însușirea de a fi lipsite de polen sau de a produce polen neviabil, steril, fenomenul fiind cunoscut sub numele de *androsterilitate*.

Fenomenul androsterilității a fost pus în evidență la *Satureja hortensis* de către C. Correns, în anul 1904, iar ulterior a fost relevat și la porumb, iarbă de Sudan, sfeclă pentru zahăr ș.a. Caracterul respectiv se folosește pe scară largă în lucrări de hibridare, de exemplu la porumb, făcând inutilă operația costisitoare și pretențioasă de castrare a florilor, în vederea obținerii de hibrizi simpli sau dubli de porumb.

De fapt, androsterilitatea este o însușire ereditară care se poate transmite prin factori ereditari recesivi localizați în nucleu, prin factori localizați în citoplasmă, ca și prin factori din nucleu și din citoplasmă.

Androsterilitatea nucleară, observată la plante autogame, nu prezintă importanță practică din cauza apariției descendenților sterili în proporții mari și, ca urmare, nu este folosită în procesul de producere a semințelor hibride.

Androsterilitatea citoplasmatică este determinată de factori citoplasmatici *S*, care se comportă ca factori dominanți față de factorul citoplasmatic de fertilitate *Fal* plantelor cu aceeași formulă genotipică. Prin polenizarea plantelor androsterile (*S*) cu polen de la plantele androfertile apar în *F1* numai plante androsterile, deoarece citoplasma provine în întregime de la genul femel. Din aceste motive, androsterilitatea citoplasmatică are importanță practică deosebită, folosindu-se cu mult succes în producerea seminței hibride la porumb, sorg, sfeclă pentru zahăr, grâu, cartof ș.a. Recent s-a dovedit că genele pentru androsterilitate citoplasmatică nu sunt cloroplastice, cum s-a crezut un timp, ci gene mitocondriale al căror ADN a suferit alterări de structură și funcție.

La porumb, fenomenul androsterilității a fost descoperit de M.M. Rhoades (1933). Pentru stabilirea naturii factorilor citoplasmatici materni care provoacă androsterilitatea și a factorilor nucleari paterni, Rhoades a efectuat polenizarea repetată a plantelor androsterile cu polen de la o linie normală cu genom bine cunoscut. După mai multe generații de retroîncrucișare s-a realizat transferul genomului celulei sexuale parentale în citoplasma celulei sexuale materne. Înlocuirea genomului propriu cu genomul unei forme fertile nu a restabilit androsterilitatea, fapt care a confirmat că androsterilitatea este o însușire cauzată de factori localizați în citoplasmă, care acționează independent de factorii nucleari.

Androsterilitatea nucleară-citoplasmatică este determinată de factorul citoplasmatic *S* care se manifestă în prezența factorilor nucleari în stare recesivă *rr*. Plantele care conțin acești factori au posibilitatea de a releva atât fenomenul de androsterilitate, cât și pe cel de restaurare a *fertilității*, ca urmare a faptului că în citoplasmă, pe lângă factorul de sterilitate *S*, dețin și factorul de fertilitate *F*, iar în nucleu intervin factorii dominanți ai restaurării fertilității *RR*

3. CARACTERISTICILE EREDITĂȚII CITOPLASMATICE

În general, fenomenul eredității citoplasmatic se caracterizează prin:

- transmiterea caracterelor în alte proporții decât cele mendeliene, și anume în mod unparental, adică de la parintele care participă cu cea mai mare cantitate de citoplasmă;
- manifestarea în generația *F1* a caracterelor materne, indiferent de constituția genetică a organismelor respective;
- lipsa fenomenului de linkage și, ca urmare, imposibilitatea întocmirii hărților cromozomale (la *Sacharomyces*, *Neurospora* ș.a. s-a demonstrat totuși linkajul genelor citoplasmatic, ca și recombinația lor);
- manifestarea unor caractere fenotipice depinzând de constituția genotipică a organismului matern, independent de genotipul propriu;
- posibilitatea apariției mutațiilor spontane sau induse artificial la genele extranucleare.

În afara modelului transmiterii stricte a genelor extranucleare pe cale maternă, pus în evidență la porumb, și la marea majoritate a plantelor analizate, s-a descris și un model al transmiterii biparentale, dar în raporturi de segregare aberante, nemendeliene, a genelor citoplasmatic, ca la genurile *Oenothera* și *Pelargonium*.

Rezumat: Cazuri de ereditate citoplasmatică; Androsterilitatea citoplasmatică; Caracteristicile eredității citoplasmatic

Test de autocontrol:

42.	Ereditatea citoplasmatica este asigurata de gene plasate la nivelul:	a) mitocondriilor si plastidelor
		b) ribozomilor si reticul endoplasmatic
		c) nucleului
43.	Ereditatea citoplasmatica se realizeaza :	a) pe linie paterna
		b) pe linie materna
		c) pe linie paterna si materna
44.	Androsterilitatea poate fi inteleasa ca fiind:	a) procesul de formare al polenului
		b) incapacitatea de a produce polen sau capacitatea de a produce polen steril
45.	Utilizarea androsterilitatii in lucrarile de hibridare duce la eliminarea:	a) lucrarii de polenizare a formei mama
		b) lucrarii de purificare
		c) lucrarii de castrare a formei mama

CAPITOLUL IX

BAZELE BIOCHIMICE ALE EREDITĂȚII

1. IDENTIFICAREA MATERIALULUI GENETIC

Toate cercetările efectuate la începutul secolului, legate în primul rând de transmiterea caracterelor, nu au condus la identificarea unei substanțe care să fie răspunzătoare de toate aceste procese. Descoperite din biochimie au venit însă în ajutorul cercetărilor de genetică. Astfel, cercetătorii au ajuns la concluzia că pentru a putea fi numită material genetic, o substanță trebuie să îndeplinească trei condiții metabolice esențiale:

- să poarte toate informațiile necesare organizării structurale și funcționării metabolice a celulei și organismului;
- să se replice în modul cel mai corect, astfel încât și celulele iice să conțină aceeași informație, precum celula mamă din care a provenit;
- să poată suferi ocazional mutații (modificări) care, apoi, să poată fi transmise la urmași.

Prin imensa lor diversitate și prin faptul că se află alături de acizii nucleici în compoziția cromozomilor, moleculele proteice au atras atenția cercetătorilor, care au fost tentați să creadă că ele reprezintă materialul genetic. Pe de altă parte, experiențele de transformare genetică au condus la concluzia că **acidul dezoxiribonucleic (ADN)** poate fi considerat ca fiind material genetic.

2. ADN - MATERIAL GENETIC LA PROCARIOTE ȘI EUCARIOTE

ADN fusese descoperit, ca substanță chimică, cu mult timp înaintea experimentelor de transformare genetică. În 1869, Friedrich Miescher, l-a identificat ca fiind prezent în nucleii lapților de somn, și l-a denumit nucleină. Mai târziu, în 1914, Robert Feulgen a observat că poate fi pus în evidență prin colorare cu fucsină bazică. În 1920, P.A. Levene, în urma unui studiu chimic a descoperit că în compoziția AND-ului intră patru baze azotate: **adenină (A), guanină (G), citozină (C), timină (T)**, un **zahar (2-deoxiriboza)** și **o grupare fosfat – nucleotidă**. Cele patru baze azotate sunt de două tipuri: **purinice (A și G)** și **pirimidinice (C și T)**.

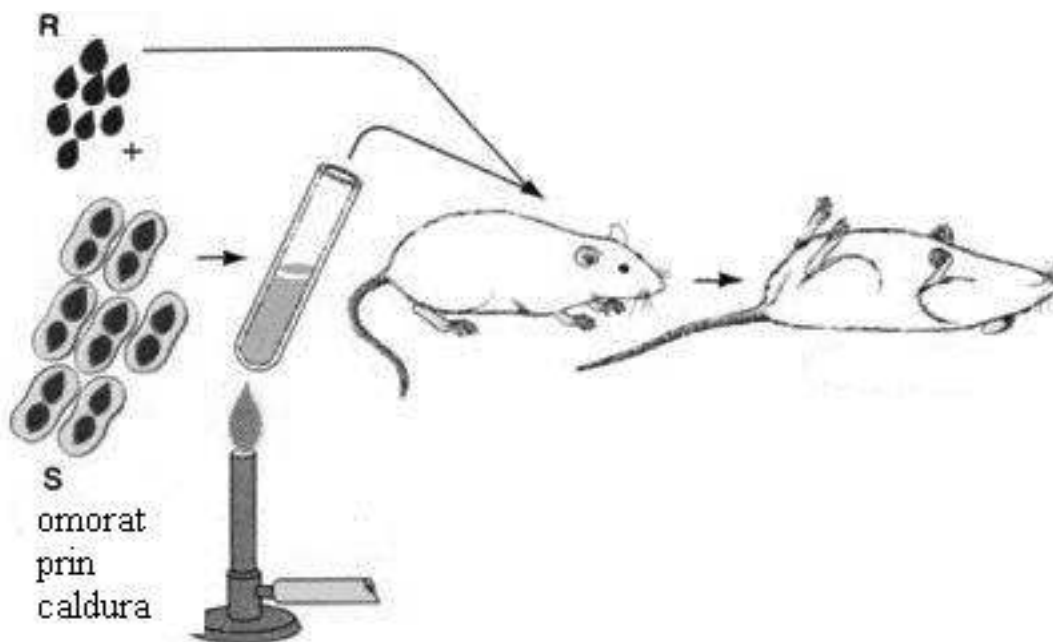
Tot la începutul secolului, în încercarea de a identifica naura și cauzele diverselor boli, au început experimentele de transformare genetică.

La mamifere, pneumonia bacteriană este cauzată de *Streptococcus pneumoniae*, care este capabilă să se protejeze împotriva mecanismului de apărare al animalului infectat prin sintetizarea unei capsule polizaharidice. Această bacterie poate fi crescută pe mediu de cultură artificial și formează colonii care, datorită capsulei, au aspectul neted. Alături de această tulpină, a mai fost

identificată o alta, care însă, pentru că nu poate forma capsule protectoare, nu poate face față mecanismului de protecție a animalului infectat și, în consecință, nu produce boala. Pe mediul de cultură artificial, această tulpină, formează colonii de tip rugos. În concordanță cu aspectul coloniilor, cele două tulpini au fost denumite “tipul S” (de la termenul englezesc smooth = neted și “tipul R” rough = rugos).

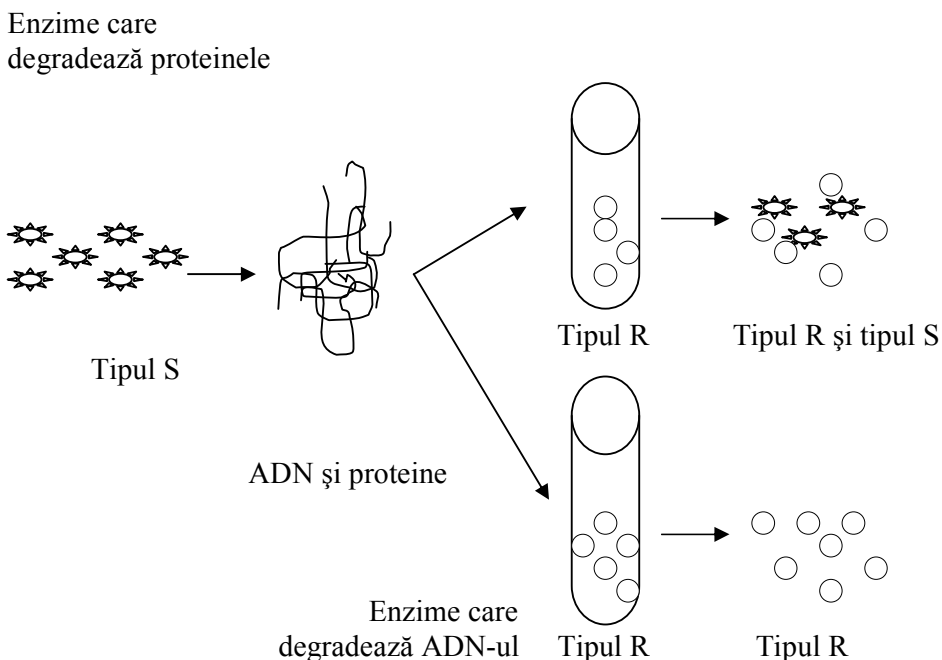
În anul 1920, Frederick Griffith a injectat tulpina R în două variante – activă și omorâtă prin căldură – la șoareci. Efectul? Nul. Ceea ce era de așteptat, date fiind particularitățile acestei tulpini. În schimb, injectarea unui amestec format din bacterii R active și bacterii S omorâte prin căldură, a provocat pneumonie cu o frecvență notabilă. Evident, într-un anumit fel, bacteriile de tip R, inițial inactive, au devenit active în amestec cu cele de tip S inactive. În acel moment, Griffith nu a putut explica rezultatele experimentului său, cunoscut drept “experimentul Griffith” decât afirmând că există un **factor transformator** care a determinat schimbarea proprietăților tulpinii bacteriene și, în final, moartea șoarecilor de pneumonie.

Fig. 9. 1. Schema experiențelor lui F.Griffith



În 1944, Oswald Avery a reluat experimentul lui Griffith, dar a eliminat din el șoarecii, pentru a evidenția faptul că aceștia nu au avut nici un rol în transformarea bacteriilor. El a cultivat bacterii de tip S și a extras din celulele acestora ADN. Extractul obținut – de fapt, un amestec de ADN și proteine contaminate – a fost supus la două tratamente diferite (vezi figura 9. 2.) și a fost folosit pentru tratarea unor culturi de celule de tip R. S-a constatat că în cazul degradării ADN din amestec, tipul R nu a suferit nici o modificare (transformare). În schimb, atunci când au fost degradate proteinele, s-a obținut un amestec de celule de tip R și celule tip S. Acest experiment a demonstrat că factorul transformator și, implicit, materialul genetic, este **ADN**.

Fig. 9. 2. Diagrama experimentului prin care s-a demonstrat că ADN și nu proteinele reprezintă materialul genetic



Acest experiment a fost acceptat de către întreaga lume științifică drept dovada finală a faptului că **ADN constituie materialul genetic**. Mai târziu, a fost evidențiat faptul că, la unele virusuri – numite, nu întâmplător, ribovirusuri – ARN este materialul genetic.

3. ARN – MATERIAL GENETIC LA RIBOVIRUSURI ȘI VIROIZI

Există o anumită categorie de virusuri care nu conțin ADN, ci doar ARN și proteine. Această categorie include **ribovirusurile**. Din ea fac parte virusul mozaicului tutunului (TMV), virusul poliomeleitei, virusul gripal, virusul imunodeficient (HIV), virusul encefalitei etc.

În 1955 – 1956, două echipe de cercetători (Frankel Conrat și Williams în S.U.A., Gierer și Schram în Germania), în paralel, au demonstrat că la TMV transformarea genetică este realizată de către ARN.

Viroizii sunt organisme acelulare care, spre deosebire de virusuri, nu au decât o moleculă de ARN de dimensiuni foarte reduse, care stochează informația genetică și este capabilă de multiplicare în celula gazdă, iar apoi, de infectarea altor celule.

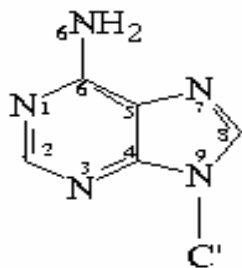
4. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A ACIZILOR NUCLEICI

Acizii nucleici sunt, **polimeri** (molecule mari, alcătuite din unități repetabile de n ori). În compoziția lor intră trei categorii de substanțe: bazele azotate, o pentoză și un radical fosfat.

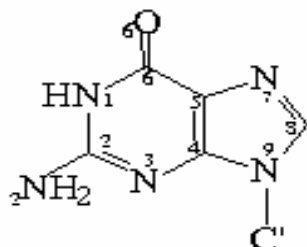
Bazele azotate (vezi figura 9. 3.) care intră în compoziția acizilor nucleici sunt grupate în două categorii: **purinice**, adică adenina (A) și guanina (G) și **pirimidinice**, adică timina (T), citozina (C) și uracilul (U). În compoziția ADN intră cele două baze purinice (A și G) și două dintre bazele pirimidinice, mai precis, T și C. În compoziția ARN, intră aceleași baze purinice (A și G), iar dintre

bazele pirimidinice - T și U -. Atomii de carbon și azot din bazele azotate sunt numerotați de la 1 la 9 pentru purine și, respectiv de la 1 la 6 pentru pirimidine.

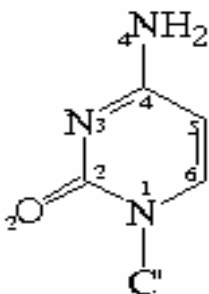
Fig.9. 3. Bazele azotate : purinice și pirimidinice



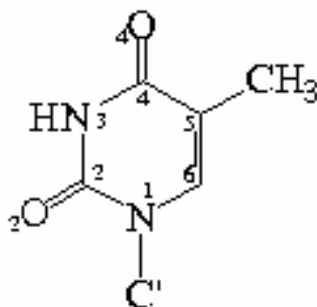
Adenina



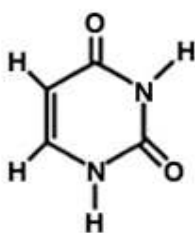
Guanina



Citozina



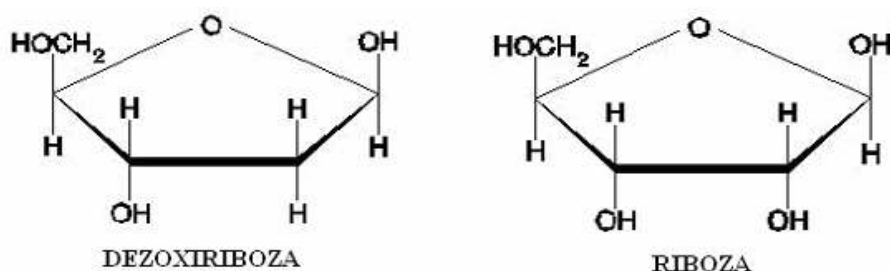
Timina



Uracil (înlocuiește Timina în ARN)

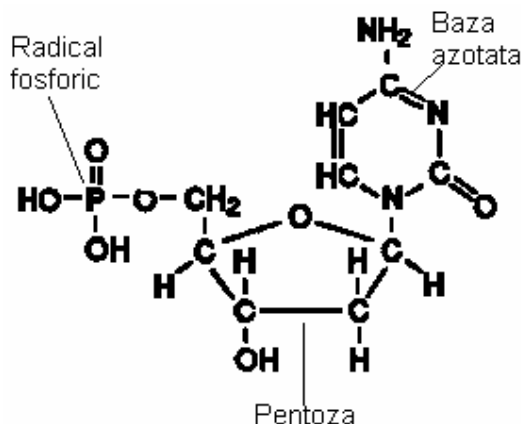
Pentozele (vezi figura 9. 4.) sunt **2-dezoxiriboza** în ADN și **riboza** în ARN, iar atomii lor de carbon sunt numerotați de la 1' la 5'.

Fig. 9. 4. Pentoze



Baza azotată se leagă de pentoză și formează un **nucleosid**. Prin adăugarea unui radical fosfat la atomul de carbon 5' al pentozei se formează o **nucleotidă** (vezi figura 9. 5.). Nucleotida reprezintă unitatea de bază a acizilor nucleici. Polimerizarea nucleotidelor are ca rezultat **catena polinucleotidică**, sau structura primară a acizilor nucleici.

Fig.9. 5. Structura unei nucleotide



Polimerizarea presupune adăugarea de nucleotide, una după alta, în următoarea configurație: la prima nucleotidă, mai precis la atomul de carbon 3', unde există o grupare HO^- , se atașază următoarea nucleotidă cu radicalul său fosfat. Aceasta din urmă cedează un H^+ care, împreună cu HO^- , formează H_2O , iar cele două nucleotide rămân unite printr-o legătură covalentă de tipul fosfodiester. La fel se întâmplă și cu celelalte nucleotide. De regulă, catena care conține până la 10 nucleotide poartă numele de **oligonucleotidă**, iar cea care conține mai mult de 10 nucleotide se numește **polinucleotidă**. Dacă, la finalul polymerizării se analizează catena formată, se observă că prima nucleotidă are atomul de carbon 5' cu radicalul fosfat liber, iar ultima nucleotidă are atomul de carbon 3' cu radicalul HO^- liber. Se poate spune deci că există o orientare de tipul 5' – 3', în catena polinucleotidă de ADN și, respectiv, ARN.

5. STRUCTURA FIZICĂ A ACIZILOR NUCLEICI

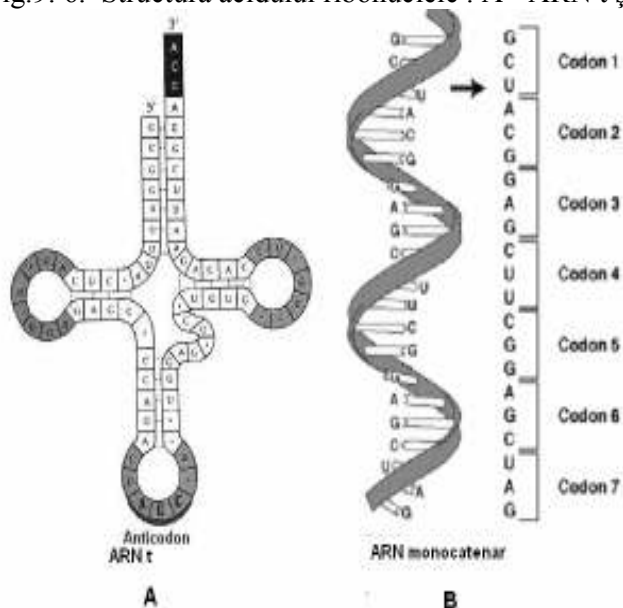
Dacă din punct de vedere chimic cele două tipuri de acizi nucleici nu diferă foarte mult unul de altul, din punct de vedere al structurii fizice există foarte multe deosebiri.

Cea mai simplă structură o are molecula de ARN care, de fapt, nu este alcătuită decât dintr-o singură catenă polinucleotidică, având orientarea 5' → 3'. În celulă, există însă mai multe tipuri

de ARN, fiecare cu rolul său. În consecință, catena polinucleotidică capătă diferite structuri secundare, în funcție de tipul de ARN din care face parte.

De exemplu, ARN mesager (ARNm) se prezintă sub formă monocatenară. În schimb, ARN de transport (ARNt), datorită funcțiilor sale, posedă secvențe de baze azotate interne complementare, ceea ce determină formarea unor scurte regiuni dublucatenare, fapt care conduce la împachetarea catenei într-o structură de tipul unei frunze de trifoi (vezi figura 9. 6.). Cele trei zone monocatenare contribuie la realizarea funcțiilor ARNt, funcții ce vor fi detaliate în capitolul legat de expresia genelor și sinteza proteinelor.

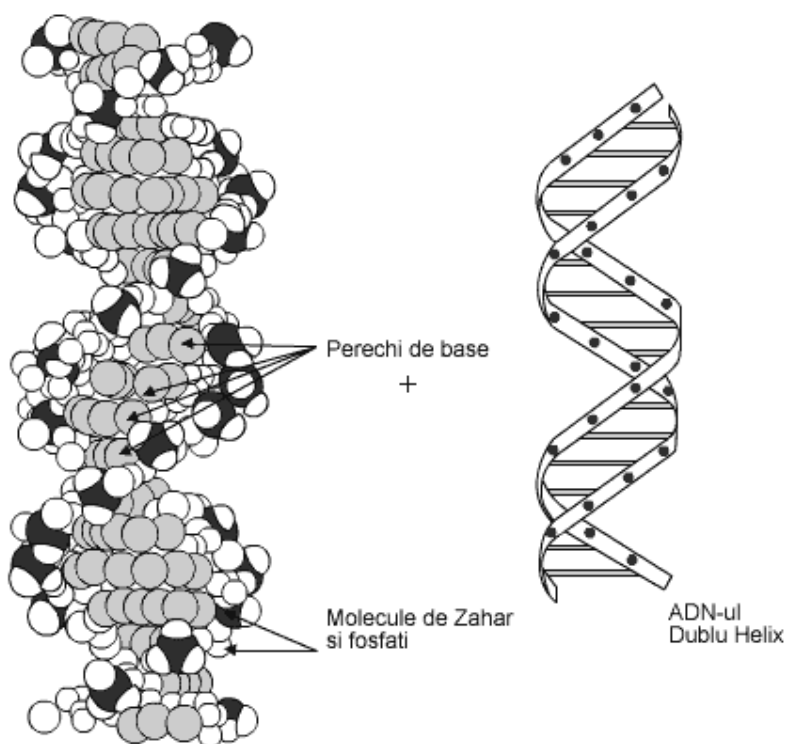
Fig.9. 6. Structura acidului ribonucleic : A= ARN t și B= ARN monocatenar



Structura fizică a ADN este însă mult mai complexă, iar J. Watson și F. Crick care au descoperit-o în 1953, au primit premiul Nobel. Folosind difracția cu raze X, cei doi cercetători au ajuns la câteva concluzii importante:

1. ADN este format din două catene, înfășurate, mai întâi, una în jurul celeilalte și apoi, ambele în jurul unui ax comun. ADN este deci, un dublu helix (vezi figura 9. 7.). Distanța dintre două nucleotide alăturate este de 3,4 Å, iar dintre două bucle ale aceleiași catene de 3,4 Å (10 nucleotide per buclă). În cadrul helixului, la interior sunt plasate bazele azotate, iar la exterior, pentoza și radicalul fosfat.

Fig. 9. 7. Structura secundară a ADN

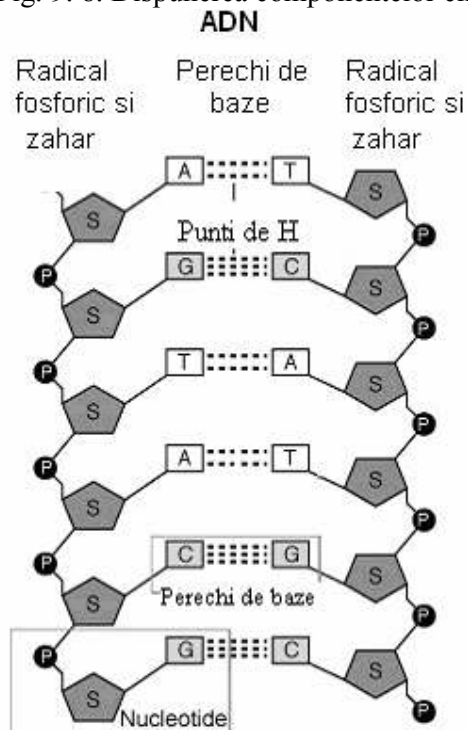


2. Cele două catene sunt legate între ele prin legături de hidrogen și sunt complementare. Aceasta înseamnă că dacă pe una dintre ele se află adenina, pe cealaltă catenă, la aceeași poziție, se află timina, iar dacă pe una este guanina, pe cealaltă va fi citozina. Și viceversa. Rezultă, deci, că în ADN există doar patru legături posibile: $A = T$, $T = A$, $G \equiv C$, $C \equiv G$ (două legături de hidrogen între A și T și trei legături de hidrogen între G și C) (vezi figura 9.8.). Această structură complementară a catenelor din ADN a fost dedusă pe baza regulii lui Cargaff: $[A] = [T]$, $[C] = [G]$.

3. În sfârșit, cele două catene de ADN sunt antiparalele, fiind orientate în direcții opuse. La același capăt al moleculei de ADN, una dintre catene are carbonul $5' - P$, iar cealaltă carbonul $3' - OH$.

Aceasta este structura fizică a ADN în condiții normale. Dar, deoarece legăturile dintre cele două catene sunt foarte slabe, la creșterea temperaturii se pot rupe foarte ușor. În consecință, supunerea unei soluții de ADN bicatenar la o temperatură ridicată determină transformarea acestuia în ADN monocatenar. Fenomenul poartă numele de **denaturare**. Dacă răcirea soluției se face lent, ADN revine la starea bicatenară, fenomenul fiind numit **renaturare**. Ce se va întâmpla însă dacă, în soluție, va fi adăugat un alt fragment de ADN monocatenar? Acesta din urmă se va atașa, pe bază de complementaritate, la catenele aflate inițial în soluție, rezultând **hibridi moleculari** de tipul ADN – ADN exogen. Datorită faptului că, la nivel chimic, ADN și ARN sunt similare, se pot obține hibridi moleculari de tipul ADN – ARN. Evident, cu condiția ca în soluția de ADN denaturat să se adauge ARN complementar.

Fig. 9. 8. Dispunerea componentelor chimice ale ADN în cadrul structurii sale secundare



6. REPLICAȚIA ADN (SINTEZA ADN)

O condiție esențială ce trebuie îndeplinită de către o substanță pentru a putea fi numită material genetic este aceea de a se multiplica (replica) cu cea mai mare fidelitate, astfel încât, în procesul de diviziune celulară, celulele fiice să conțină aceeași informație genetică ca și celula mamă din care au provenit.

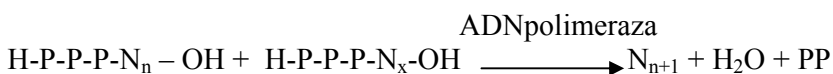
În momentul în care au propus structura fizică bicatenară a ADN, Watson și Crick au propus și modelul de replicare a acestuia: cele două catene ale celulei mamă sunt folosite ca matrițe pentru sinteza altor două catene, fiice. Moleculele de ADN din nou formate vor avea câte o catenă veche provenită de la celula mamă (matrița) și o catenă nou sintetizată. Acest mod de replicare poartă numele de replicare semiconservativă și a fost demonstrat experimental de către cercetătorii Mathews Meselson și Franklin Stahl, în 1958, utilizând izotopul greu al azotului (N^{15}) și separând moleculele de ADN cu greutatea diferite prin centrifugare în gradient de densitate.

Replicarea ADN este un proces biochimic complex la care participă un întreg aparat enzimatic. Din cadrul acestuia fac parte:

- **ADN helicazele** – enzime care se leagă de ADN-ul bicatenar, determină separarea celor două catene complementare și formarea “furcii de replicare”;
- **SSD (single stranded DNA)** – proteine care se leagă de ADN -ul bicatenar sub formă de tetrameri și măresc viteza de replicare;
- **ADN girazele** – permit desfăcerea celor două catene la nivelul “furcii de replicare”;
- **Primaza** (un tip de ARN polimeraza) – sintetizează o scurtă secvență de ARN – **primer** - prin atașarea de nucleotide la catena matriță, pe bază de complementaritate;
- **ADN polimerazele: Pol III – funcția de elongare** (polimerizare) 5' → 3' și **Pol I** cu funcțiile: 5' → 3' → elongare; 5' → 3' – exonucleazică → 3' → 5' – exonucleazică (corectare);

- **ADN ligazele** – formează legături covalente între C5' și C3' ale celor două nucleotide alăturate.

Din punct de vedere chimic, sinteza ADN este, de fapt, o reacție de polimerizare. Și, pentru că este o reacție biochimică, trebuie să fie catalizată de către o enzimă: **ADN polimeraza**.



Pentru a realiza sinteza ADN, enzima ADN-polimeraza are nevoie de:

- prezența nucleotidelor sub formă de trifosfați: dATP, dGTP, dCTP, dTTP; absența uneia dintre acestea sau modificarea radicalilor de la atomii implicați în polimerizare (C5' și C3') conduce la astoparea procesului;
- Prezența unei catene ce poate fi folosită ca matriță; aceasta va determina, de fapt ordinea bazelor azotate din noua catenă;
- Prezența unei scurte secvențe de nucleotide (ADN sau ARN), numită **primer**, care să poată oferi capătul C3'-OH necesar formării legăturii covalente; cu alte cuvinte, ADN polimeraza nu poate iniția sinteza unei catene de ADN *de novo*.

Deoarece ADN polimeraza poate adăuga nucleotide doar la capătul 3'-OH, rezultă că sinteza noii catene este orientată întotdeauna în direcția 5'3' (prima nucleotidă are capătul 5' liber, iar ultima are capătul 3' liber). În același timp, pentru că cele două catene mamă sunt antiparalele, este necesar ca și catenele fiice să fie antiparalele. Acest fapt complică mecanismul de replicare a ADN. Mai precis, pentru a se îndeplini toate condițiile, replicarea trebuie să fie **semidiscontinuu**: o catenă fiică este sintetizată continuu, iar cealaltă – discontinu, sub forma unor fragmente mici de ADN care, apoi, sunt reunite (vezi figura 9. 9.).

6. 1. ETAPELE PROCESULUI DE SINTEZĂ ADN

1. **ADN-helicazele** se atașază la molecula de ADN bicatenară, la o anumită secvență de baze azotate numită **originea replicării (ORI)** și desfac cele două catene legate prin legături de hidrogen. Se formează de-a lungul moleculei o zonă monocatenară sub forma unei bucle care, pe măsură ce helicazele înaintază într-o direcție sau alta se lărgeste din ce în ce mai mult.

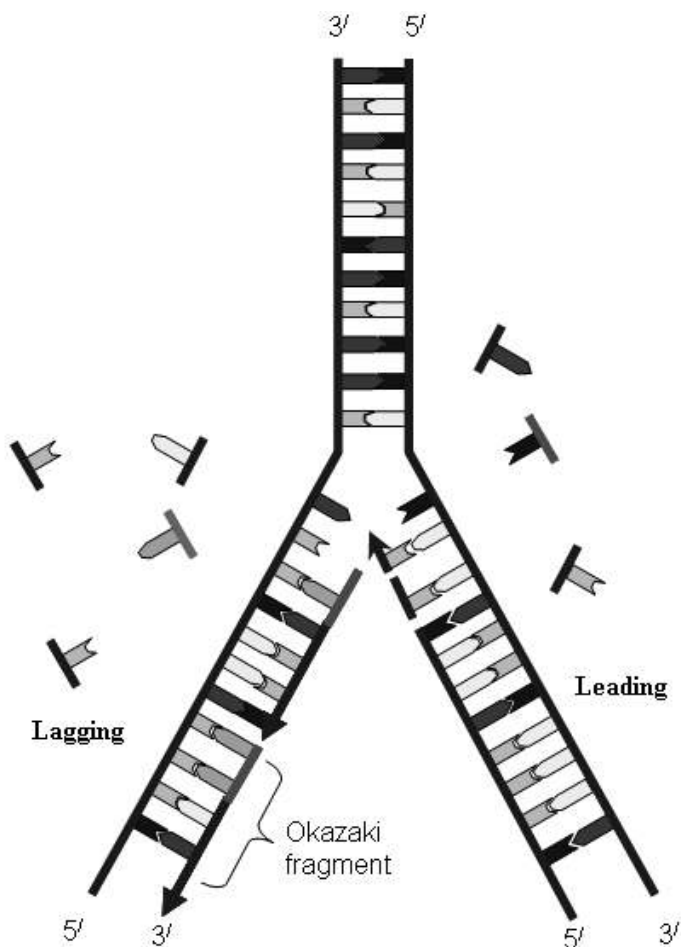
2. Pentru a menține starea monocatenară necesară replicării, **proteinele SSD** (single stranded-DNA) se atașează la cele două catene sub formă de octameri.

3. **Primazele**, având la dispoziție nucleotidele sub formă de trifosfați (dATP, dCTP, dGTP, dUTP), încep să le atașeze la catenele matriță, pe bază de complementaritate, sintetizând un fragment scurt de ARN (50-75 nucleotide), numit **primer**. Reținem că, datorită orientării antiparalele a celor două catene matriță, primerii trebuie să fie și ei antiparaleli.

4. **ADN – polimeraza III (POL III)**, având la dispoziție capătul 3'-OH de la fiecare primer începe să adauge la acesta noi nucleotide. Helicazele înaintază de-a lungul ADN-ului separând din ce în ce mai mult cele două catene iar, în urma lor, vine Pol II care își realizează funcția polimerazică: adăugarea de nucleotide la capătul 3'-OH utilizând ca matriță vechea catenă de ADN. Este important de reținut că, datorită orientării antiparalele a celor două catene matriță și, datorită faptului că, datorită orientării antiparalele a celor două catene matriță și, datorită faptului că sinteza de ADN are loc doar în direcția 5' → 3', una dintre catenele fiice, și anume cea care înaintază în aceeași direcție 5' → 3', se va sintetiza continuu (**catena conducătoare – leading**), pe când cealaltă, fiind antiparalelă, se va sintetiza discontinuu (**catena lagging**), sub formă de fragmente scurte, denumite **fragmentele Okazaki**. Deoarece viteza de replicare este foarte mare, din când în când, Pol III integrează greșit nucleotidele în catena fiică (de exemplu A în loc de C). În acest caz, intervine enzima **ADN – polimeraza I (Pol I)** care, datorită funcției sale exonucleazice în direcția

3'-5', denumită și cea de **corectură (proofreading)**, îndepărtează nucleotida greșit încorporată, iar Pol III își reia activarea de la acel punct.

Fig. 9. 9. Sinteza ADN

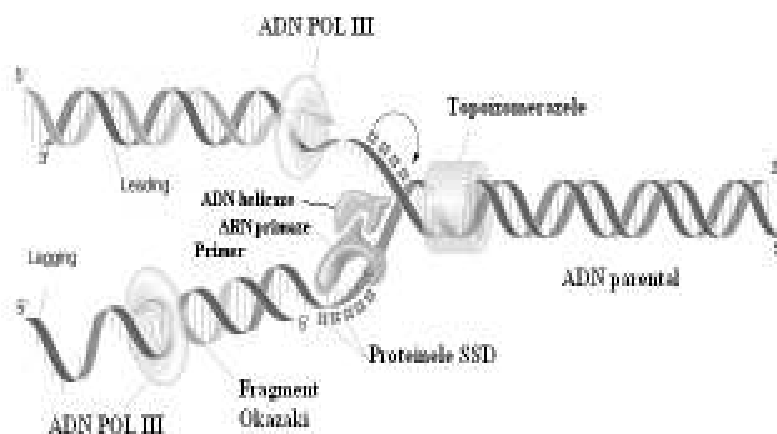


5. Atât catena continuă, cât și cea discontinuă, au la capătul 5' primerul ARN sintetizat de primaze. Acesta trebuie îndepărtat, funcție realizată tot de către Pol I prin domeniul său exonucleazic în direcția 5' $\rightarrow$ 3'.

6. Pe catena discontinuă, prin eliminarea primerilor ARN rămân porțiuni din catena matriță nefolosite pentru replicare (goluri). Acestea sunt umplute de către Pol I prin funcția sa polimerazică.

7. Fragmentele Okazaki sunt unite cu ajutorul enzimei ADN-ligaza care formează legătura covalentă între C5'al unui fragment și C3' al următorului fragment.

Fig.9. 10. Etapele sintezei ADN

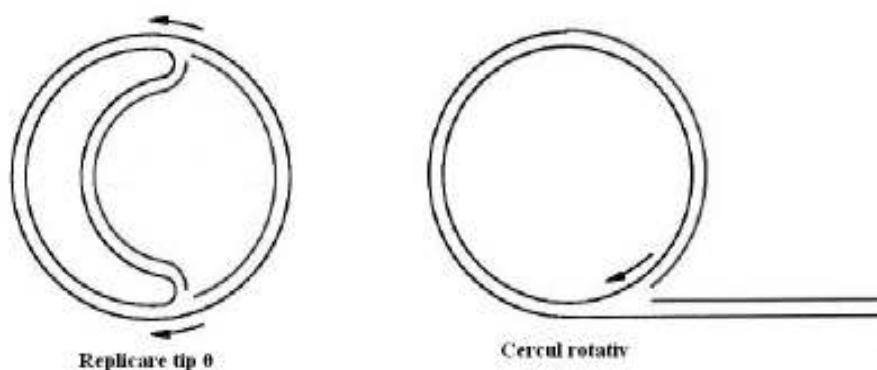


7. REPLICAȚIA ADN LA PROCARIOTE ȘI EUCARIOTE

Majoritatea organismelor procariote posedă ADN dispus în formă circulară, ceea ce complică oarecum procesul de replicare, ținând cont de faptul că ADN este un dublu helix. Replicarea acestuia începe dintr-un singur punct (ORI) și înaintază în ambele direcții -**replicare bidirecțională**.

La *E.coli* a fost demonstrat prin autoradiografiere că replicarea cromozomului său are loc tot circular, acesta luând forma literei grecești **theta** (θ) - **replicarea tip θ** (vezi figura 8. 10.). La ORI, cele două catene se desfac, furca de replicare înaintază în ambele direcții și, pentru a evita suprarăsucirea și tensionarea celor două catene la polul opus lui ORI, enzimele numite **topoizomeraze** crează tăieturi în una din cele două catene, aceasta se răsuște, iar tensiunea este eliminată.

Fig. 9. 11. Replicare de tip θ și cercul rotativ



Anumite virusuri cu ADN-ul circular, datorită faptului că au nevoie de un număr foarte mare de copii ale acestuia, au adoptat o altă strategie de replicare a cromozomului lor. Modelul lor de replicare poartă numele de **cercul rotativ** și este prezentat în figură. Una dintre cele două catene este tăiată la ORI și se crează cele două capete: unul 5' cu P și celălalt cu 3'-OH.

Având la dispoziție capătul 3'-OH, enzima ADN polimeraza începe să adauge noi nucleotide folosind ca matriță catena netăiată, circulară. Prin adăugare de nucleotide la capătul 3', capătul 5' este împins înainte fapt care conduce implicit, la rotirea catenei din interior (cercul rotativ). De cele mai multe ori, prin rotirea catenei din interior se formează lanțuri lungi de ADN bicatenare cuprinzând mai multe copii ale ADN-ului inițial. În final, enzimele vor tăia acest lanț în fragmentele corespunzătoare fiecărui cromozom, acestea se unesc și sunt identice cu ADN-ul circular pe baza căruia au fost sintetizate.

La eucariote, ADN-ul este liniar, deci replicarea decurge în mod normal. Datorită lungimii foarte mari a cromozomilor eucariotelor și vitezei mari de replicare a acestora, este necesar ca procesul să înceapă în mai multe puncte, mai multe ORI, de la fiecare dintre acestea, furca de replicare înaintând în ambele direcții (replicare bidirecțională).

8. CODUL GENETIC ȘI CARACTERISTICILE SALE

Așa cum am văzut, doar patru baze azotate sunt necesare pentru a determina ordinea celor douăzeci de aminoacizi dintr-o catena polipeptidică. Acest fapt este posibil deoarece o anumită combinație de trei baze azotate adiacente este utilizată pentru introducerea unui anumit aminoacid. Această secvență de trei baze azotate poartă numele de codon, iar totalitatea codonilor alcatuiește codul genetic (vezi tabelul).

Înainte de a fi determinată experimental, existența codului genetic sub formă de triplet a fost dovedită matematic. Astfel, dacă o singură bază azotată ar fi codificat un aminoacid, atunci ar exista doar patru aminoacizi, dacă două baze azotate ar codifica un aminoacid, atunci $4^2 = 16$ aminoacizi posibili, în fine, dacă trei baze azotate codifică un aminoacid, atunci $4^3 = 64$. Deși nu există 64 de aminoacizi ci doar 20, 61 dintre cei 64 codifică integrarea aminoacizilor, ceea ce înseamnă că mai mulți codoni vor determina includerea aceluiași aminoacid în catena polipeptidică.

Prima dovadă acceptată drept evidență a codului genetic sub formă de tripleți a fost reprezentată de experimentul de inserare și deleție a anumitor baze azotate dintr-o secvență codificatoare. În procesul de translație bazele azotate sunt citite secvențial, codon după codon, orice bază azotată inserată sau deletată duce la modificarea întregului cadru de citire și, în consecință la modificarea catenei polipeptidice inserate. Vorbim deci, de așa-numitul cadru de citire. Mutațiile acestuia (deleții, inserții de baze azotate) din experimentele de translație efectuate *in vitro* au dovedit că fiecare aminoacid din catena polipeptidică este codificat de către o tripletă de baze azotate - **un codon**.

a IIa BAZA					
I B A Z A	U	C	A	G	
	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

aIIIa
B
A
Z
A

CODUL GENETIC

O altă caracteristică extrem de importantă a codului genetic o reprezintă **degenerarea** sa. Se observă în tabel ca toți aminoacizii, cu excepția metioninei și triptofanului, sunt codificați de cel puțin doi codoni. Dacă analizăm structura bazelor azotate ce intră în componența codonilor care codifică același aminoacid, observăm că prima și cea de a doua sunt aceleași pentru toți (excepție face leucina la care se poate schimba și cea de a doua bază). Cea care se schimbă este baza azotată numărul 3 care mai poartă numele și de **poziția labilă**. Raționamentul existenței bazei labile este unul de natură energetică: sinteza proteică trebuie să decurgă cu viteză foarte mare, iar formarea celor trei legături de hidrogen între codon și anticodon necesită timp și energie mai multă, comparativ cu formarea doar a două legături.

Cea mai importantă caracteristică a codului genetic o reprezintă **universalitatea** sa. Indiferent de natura sau de gradul de evoluție al organismului pe care îl analizăm, aceeași tripletă de baze azotate codifică același aminoacid. Prin urmare, codul genetic are o origine foarte veche, la începutul existenței primelor organisme.

Rezumat: Identificarea materialului genetic; ADN – material genetic la procariote și eucariote; ARN – material genetic la ribovirusuri și viroizi; Compoziția chimică a acizilor nucleici; Structura fizică a acizilor nucleici; Replicația ADN (sinteza ADN); Etapele procesului de sinteză ADN; Replicația ADN la procariote și eucariot; Codul genetic și caracteristicile sale

Test autocontrol:

46.	O nucleotide este alcătuită din:	a) o bază azotată, un zahăr și un radical fosforic
		b) o bază azotată și un zahăr
		c) o bază azotată și un radical fosforic
47.	Ribovirusurile prezintă ca material genetic:	a) ADN
		b) proteine
		c) ARN
48.	Bazele azotate ce intră în alcătuirea AND sunt:	a) A,G,C,T
		b) A,G,C,U
		c) A,G,C
49.	Complementaritatea catenelor de AND se referă la legături de tip:	a) A-G și C-T
		b) A-U și C-G
		c) A-T și G-C
50.	O soluție de AND supusă la temperaturi ridicate duce la separarea catenelor, proces denumit:	a) degenerare
		b) denaturare
		c) degivrare
51.	Un codon reprezintă:	a) o bază azotată
		b) un triplet de baze azotate
		c) o bază azotată și un zahăr

CAPITOLUL X

SINTEZA PROTEICĂ

1. ROLUL GENETIC AL ACIZILOR NUCLEICI

Pentru a putea fi considerată material genetic, o substanță trebuie să asigure funcționarea structurală și metabolică a celulei. În acest capitol vom vedea cum răspunde ADN la această cerință.

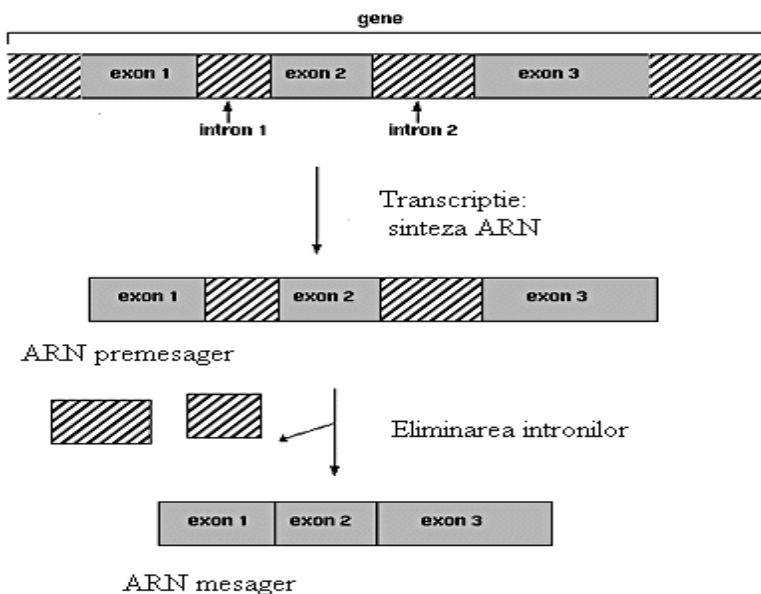
Proteinele sunt moleculele responsabile de catalizarea celor mai multe reacții biochimice (enzimele), de reglarea expresiei genelor (proteinele reglatoare) și de determinarea structurii celulelor, țesuturilor și virusurilor (proteinele structurale). În consecință, o substanță, numită material genetic, trebuie, într-un anumit mod, să determine sinteza tuturor acestor tipuri de proteine. Proteinele sunt alcătuite din mai multe catene polipeptidice, în care unitățile de bază sunt aminoacizii. Cei 20 de aminoacizi esențiali pot fi aranjați în orice număr și orice ordine, asigurându-se astfel imensa diversitate a moleculelor proteice.

Fiecare aminoacid conține un atom de carbon la care se atașează gruparea COOH, gruparea NH₂- și o catenă secundară R. Legătura dintre doi aminoacizi se formează între COOH- de la primul aminoacid și NH₂- de la următorul aminoacid. Rezultatul: o legătură peptidică. Prin urmare, o catena polipeptidică posedă o grupare terminală de tipul NH₂- la un capăt și COOH- la celălalt capăt.

În gene, respectiv în ADN, se găsește informația necesară sintezei proteinelor. O secvență de nucleotide din ADN determină o anumită secvență de aminoacizi în catena polipeptidică. Acest atribut al genelor și polipeptidelor poartă numele de **colinearitate**. Colinearitatea este caracteristică procariotelor. La eucariote, există însă și ADN noninformațional, care întrerupe continuitatea informației pentru majoritatea genelor (vezi figura 10.1.).

Deoarece ADN nu părăsește niciodată nucleul, iar sinteza proteinelor are loc în citoplasmă, între cele două substanțe se interpune ARN mesager (ARNm) care are rolul de a copia informația genetică din ADN (**transcripție**) pentru a o traduce apoi, la nivelul ribozomilor, în catene polipeptidice (**translație**).

Fig. 10.1. Transcripția la eucariote



Transcripția la eucariote

2. TRANSCRIPTIA ȘI TIPURILE DE ARN

Transcripția este primul pas în procesul de expresie al genelor. Mai precis, este vorba de sinteza unei molecule de ARN, utilizând ca informație ADN.

Așa cum am văzut în capitolul referitor la structura chimică a acizilor nucleici, între ADN și ARN există două diferențe majore: riboza înlocuiește dezoxiriboza, iar uracilul înlocuiește timina.

Sinteza ARN este, din punct de vedere chimic, tot o reacție de polymerizare. O reacție catalizată, de această dată, de ARN polimeraza.

Sinteza ARN prezintă numeroase asemănări cu cea a ADN:

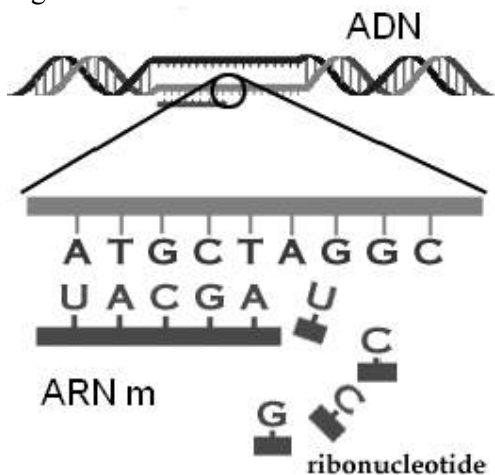
a) prezența nucleotidelor sub formă de ribonucleozide 5' fosfat(ATP,CTP,GTP, TTP);

b) prezența unei catene de ADN ce poate fi folosită ca matriță. Observați că ARN – ul se sintetizează pe baza informației genetice din ADN și nu se replică, precum acesta din urmă. Ordinea bazelor azotate din ADN determină ordinea bazelor azotate din ARN.

Spre deosebire de ADN-polimeraza, ARN-polimeraza poate iniția sinteza *de novo* a unei catene polinucleotidice. Cu alte cuvinte, ea nu necesită prezența unui primer anterior sintetizat. La fel ca și ADN-polimeraza, atașează la carbonul 3'-OH o nouă nucleotidă, ceea ce dovedește că și sinteza ARN este orientată în direcția 5' → 3'. Prin urmare, catena de ADN trebuie să fie orientată în direcția 3' → 5' pentru că *sinteza ARN este continuă*.

Ceea ce este foarte important de reținut este faptul că, pentru sinteza unui anumit ARN, cu o anumită secvență de baze azotate, este folosită, ca matriță, o singură catena din molecula de ADN. Aceasta este denumită **catena sens**, iar complementara sa - **catena antisens**. Dar, pentru sinteza tuturor tipurilor de ARN sunt folosite ambele catene ADN. Cu alte cuvinte, o catenă de ADN poate fi sens pentru un tip de ARN și antisens pentru altul (vezi figura 10.2.).

Fig. 10. 2.Sinteza ARN- ului folosind ca matriță ADN-ul



2. 1. TIPURI DE ARN

ARN MESAGER (ARNm)

Este cel care transcrie informația genetică din nucleu, de la nivelul ADN-ului și o transportă în citoplasmă, pentru a fi tradusă (translatată) în proteine la nivelul ribozomilor.

La procariote, ARNm este utilizat direct în translație, fără nici o altă modificare. Spre deosebire de acestea, la eucariote, prin transcripție, se sintetizează o moleculă de ARNm primară (transcript

primar) care suferă o serie de modificări pentru a deveni ARNm matur. Aceste modificări poartă numele de **procesarea transcriptului primar** și includ:

1. Adăugarea la capătul 5' a unui grup de nucleotide terminal numit **cap** ce conține guanozina modificată sub formă de metil. Capul este necesar pentru atașarea ARNm matur la ribozomi și inițierea translației.

2. Adăugarea la capătul 3' a unui grup de nucleotide terminal (peste 200 de nucleotide) de tipul poliadenozina - **coada poli A**. Aceasta asigură stabilitate moleculei de ARNm la acțiunea ribonucleazelor (enzime ce degradează ARN-ul) prezente în citoplasmă.

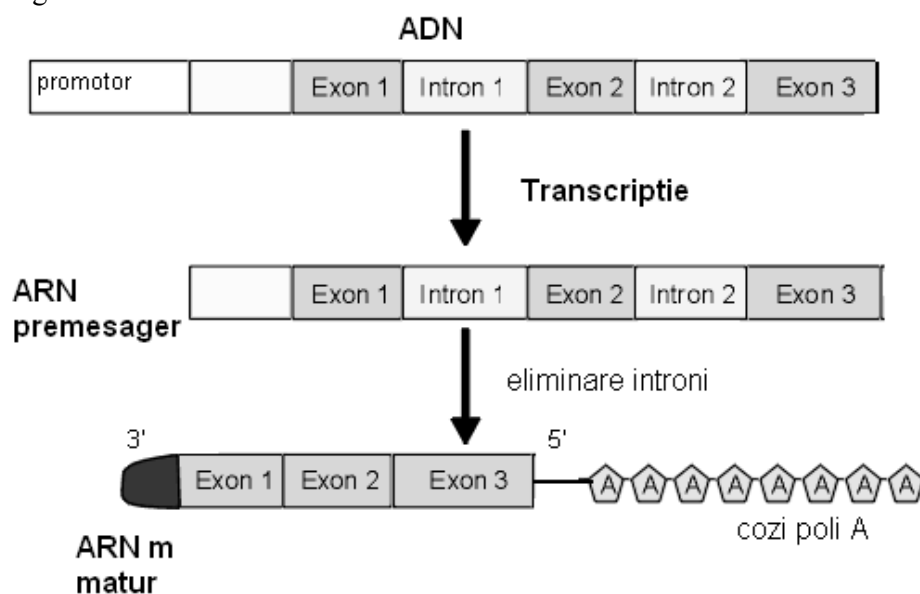
3. Eliminarea secvențelor noninformaționale (intronilor) și reunirea celor informaționale(exonilor). Este un proces complex cunoscut sub numele de îmbinarea ARN-ului (ARN

splicing) ce are loc la nivelul **spliceozomilor** (particule situate în nucleu formate din proteine și câteva tipuri de ARN nuclear mic - ARNm). Moleculele de ARNm conțin secvențe complementare cu capetele 5' și 3' ale intronilor și exonilor, capete pe care,le aduc unul în apropierea celuilalt, determinând cuplarea lor și, în final, eliminarea intronilor. Din analiza secvențelor de baze azotate din exoni și din introni s-a constatat că există două secvențe consensus: una donor (capatul 5') și alta acceptor (capatul 3'). În figură este prezentată schematic îmbinarea a doi introni prin eliminarea intronului. În urma eliminării, intronul ia forma unui lasso și, apoi, este fragmentat în secvențe foarte mici. Legătura care se formează la nivelul intronului, între A și G, este una atipică; C5' de la G se atasează la C2' de la A deoarece C3' este ocupat de restul lanțului nucleotidic. La *Tetrahymena* eliminarea intronilor dintr-un precursor al ARN ribozomal este cu totul specială. Acesta se împachetează în așa fel încât **autoelimină** intronii. Este prima dovadă că ARN-ul poate avea și rol enzimatic, catalizând reacții chimice. Un astfel de ARN cu rol enzimatic poartă numele de **ribozime**.

Existența intronilor în transcriptul primar a fost demonstrată și pe baza hibridărilor moleculare de tipul ADN - ARNm pentru aceeași genă. S-a constatat că ADN formează din loc în loc bucle, care reprezintă secvențele noninformaționale eliminate în procesul de formare a ARNm matur.

Numărul intronilor variază foarte mult de la o genă la alta, dar, în general, eucariotele inferioare au mai puțini introni comparativ cu cele superioare. Majoritatea intronilor par să nu aibă o anumită funcție, aceasta deoarece genele sintetizate artificial fără introni, au aceeași funcție ca și cele cu introni. Dar, uneori, aceștia pot include secvențe reglatoare ale genei și, deci, reglatoare ale transcripției. În orice caz, ei au un rol esențial în evoluția genelor.

Fig. 10. 3. Schema eliminării intronilor



În cadrul unui ARNm matur se disting trei zone distincte: a) capătul 5' sau **liderul** care nu este folosit în translație și, în anumite cazuri, determină rata acesteia; b) **secvența codificatoare** având între 500 și 3000 baze azotate (în funcție de numărul de aminoacizi din catena polipeptidică); c) capătul 3' sau **coada** care, de asemenea, nu este translatat. La procariote, majoritatea ARNm au o viață foarte scurtă, de câteva minute. La eucariote, în schimb, viața acestora este de câteva ore, deși există variații mari de la câteva minute la câteva zile. Viața scurtă a ARNm reprezintă un alt mod de a regla activitatea unei gene.

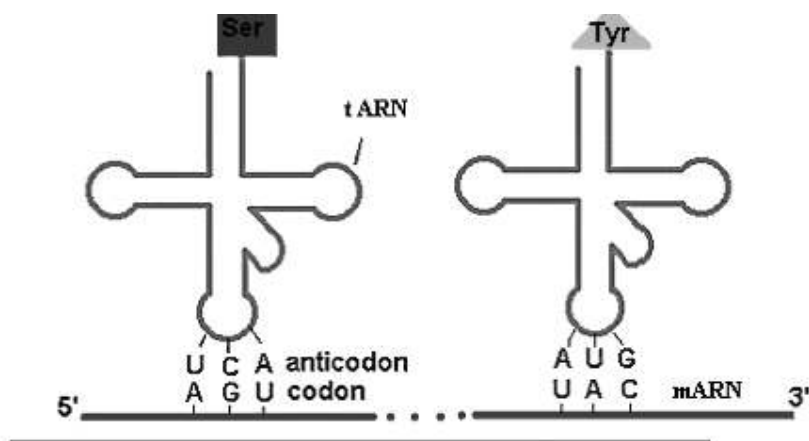
ARN DE TRANSPORT (ARNt)

Este o moleculă mică de ARN (70-90 de nucleotide) care aduce aminoacizii la locul de sinteză a proteinelor și, care, participă, prin domeniile sale (buclele monocatenare și capătul 3') la patru procese distincte care, cronologic, se desfășoară astfel:

1. atașarea enzimei aminoacil sintetaza specifică fiecărui tip de aminoacid;
2. atașarea unui anumit aminoacid la capătul 3' ce se termină întotdeauna cu secvența (CCA. ARNt care prezintă atașat aminoacidul corespunzător se numește **ARNt încărcat**.
3. atașarea la ARNr ribozomal din componența ribozomului.
4. atașarea la codonul din ARNm și formarea legăturilor de H dintre codon și anticodon.

În consecință pentru fiecare aminoacid esențial, există un anumit tip de ARNt care se leagă la o anumită aminoacilsintetază și recunoaște un anumit codon din ARNm. Pentru a putea răspunde la toate aceste procese fiecare ARNt are o anumită structură tridimensională. În figură este prezentată configurația unui ARNt cu domeniile sale și modul în care se leagă aminoacidul la capătul 3'.

Fig.10. 4. Structura ARN t



ARN RIBOZOMAL (ARNr)

Este tipul de ARN care intra în compoziția ribozomilor, alături de proteine. Există mai multe tipuri de ARNr de mărimi diferite, cunoscute în funcție de constanța de sedimentare. De exemplu, la procariote, se întâlnește tipurile 5S, 16S și 23S (S - unitate Svedberg pentru ultracentrifugare), iar la eucariote tipurile 5S, 5,8 S, 18S și 28S.

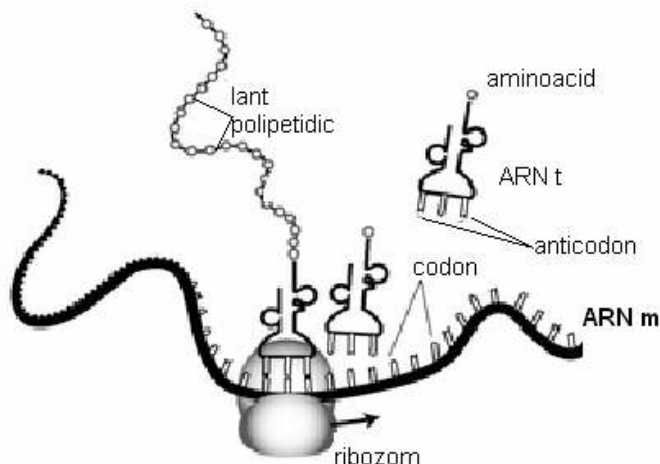
ARN NUCLEAR MIC (ARNnm)

După cum îi spune și numele, este un ARN de dimensiuni reduse, situat în nucleu și intră în componența spliceozomilor. El este implicat în procesul de eliminare a intronilor și îmbinarea exonilor (procesarea ARNm).

3. TRANSLAȚIA

Reprezintă procesul final de expresie al unei gene, respectiv acela de sinteză a unei catene polipeptidice având drept sursă de informație ADN. Translația se desfășoară în citoplasmă la eucariote sau în citosol la procariote dar, întotdeauna, la nivelul ribozomilor. Așa cum am văzut, informația genetică prezentă la nivelul ADN ajunge la ribozomi sub forma codificată - ARNm.

Fig10. 5. Schema translației



Pentru a se putea iniția procesul de translație este nevoie ca cei 20 de aminoacizi să fie gata de a participa la formarea legăturilor peptidice. Aceasta înseamnă că ei trebuie să fie atașați fiecare la ARNt-ul corespunzător lui. Reacția de atașare a fiecărui aminoacid la ARNt este catalizată de enzima **aminoacil ARN sintetaza**. Enzima trebuie să posede capacitatea de a recunoaște atât aminoacidul cât și ARNt-ul corespunzător. Recunoașterea se bazează pe existența, atât la enzima, cât și ARNt a unor conformații tridimensionale ce permit îmbinarea perfectă dintre un anumit ARNt și o anumită aminoacil ARNt sintetază. De exemplu, leucil-ARNt-sintetaza se va putea cupla doar cu ARNt ce va transporta aminoacidul leucină și care posedă anticodonul pentru leucină.

Ribozomii, la nivelul cărora are loc sinteza proteică, sunt alcătuiți din două subunități: subunitatea mică și subunitatea mare. Denumirea lor este bazată pe constanța de sedimentare. De exemplu, ribozomii 70S de la *E.coli* au subunitatea mică de 30S, iar cea mare de 50S. În mod normal, atunci când ribozomii nu sunt implicați în sinteza proteică, cele două subunități sunt separate, ele unindu-se doar pentru a realiza această funcție. Prin unirea lor, în interiorul subunității mari se creează două situsuri de reacție: **situsul peptidil** (situs P) și **situsul aminoacil** (situs A) la nivelul cărora se vor integra ARNt încărcăți cu aminoacizii corespunzători.

4. ETAPELE SINTEZEI PROTEICE

1) Inițierea catenei polipeptidice. Subunitatea mică a unui ribozom se atașează la ARNm (matur la eucariote sau cel direct sintetizat, la procariote), la secvența **lider**. Această nouă structură este recunoscută de către subunitatea mare a ribozomului care se va atașa și ea, rezultând astfel, un complex format dintr-un ribozom complet și o catenă polinucleotidică de ARNm. Ribozomul are capacitatea de a înainta pe ARNm până când, la un moment dat, întâlnește **codonul de inițiere** - AUG. Orice ARNm, indiferent de tipul catenei polipeptidice pe care o codifică, trebuie să prezinte acest codon de inițiere. Întâlnind acest codon, ribozomul se oprește și

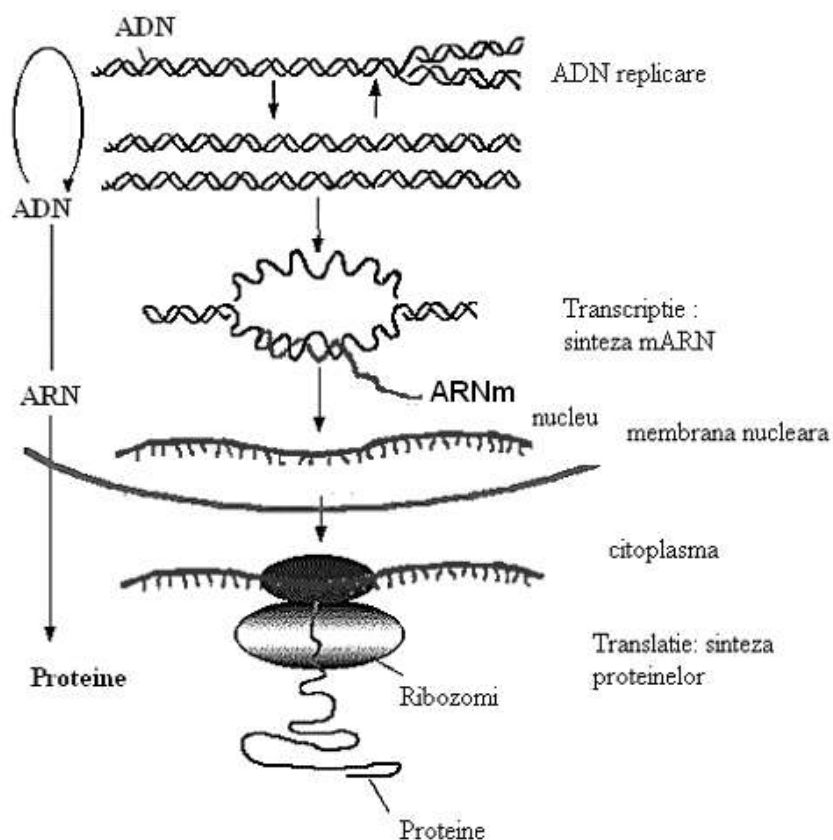
permite atașarea la situsul A a ARNt cu anticodonul corespunzător: **UAC**. Acest ARNt este încărcat cu aminoacidul corespunzător: - **metionina**. Între bazele azotate ale codonului și cele ale anticodonului se formează legăturile de H corespunzătoare datorită complementarității bazelor azotate.

2) Elongarea catenei polipeptidice. După atașarea ARNt ce transportă metionina la situsul A, ribozomul înaintază din nou pe ARNm. Astfel, încât ARNt-Metionina se mută în situsul P, situsul A rămânând liber. Aici se va integra următorul ARNt ce corespunde din punct de vedere al anticodonului (în figură, ARNt ce transportă prolina și are anticodonul GGC). Se constată că, acum, ambele situsuri sunt ocupate cu câte un ARNt ce transportă câte un aminoacid. Între aceștia din urmă se formează legătura peptidică (COOH de la metionină și NH₂ de la prolină). Formarea acestei legături nu mai permite metioninei să rămână atașată și la ARNt-ul care a transportat-o, motiv pentru care aceștia se separă. ARNt pentru metionină, rămânând fără aminoacid părăsește situsul P. La situsul A rămâne ARNt cu prolina dar, de care, acum este legată și metionina prin legătura peptidică. Ribozomul se deplasează pe ARNm cu încă o tripletă de nucleotide astfel încât conformația inițial prezentă în situsul A ajunge în situsul P. Situsul A rămâne din nou liber pentru atașarea următorului ARNt și așa mai departe. Elongarea reprezintă de fapt, un ciclu de evenimente prezentate mai sus care se repetă din nou și din nou, până când se ajunge la codonul de terminare a sintezei proteice.

3) Terminalizarea catenei polipeptidice. În ARNm există trei triplete de baze azotate: **UAA**, **UAG** și **UGA** pentru care nu există nici un ARNt cu anticodonul corespunzător. Aceste triplete se numesc **codoni stop**. În momentul în care ribozomul ajunge pe ARNm la nivelul lor, nemaexistând nici un ARNt care să aducă un alt aminoacid, nu se mai formează o altă legătură peptidică și, în consecință, sinteza proteică încetează. Catena polipeptidică este eliberată, iar cele două subunități ribozomale se separă de ARNm.

Translația prezintă o caracteristică importantă și anume, aceea că are loc într-o anumită direcție. Primul aminoacid are liber radicalul **NH₂**, iar ultimul are liber radicalul **COOH**. În figura de mai jos (fig.10.6) este ilustrat procesul de expresie al unei gene ținând cont de orientările transcripției și translației.

Fig. 10. 6. Dogma centrală a geneticii



Rezumat: Rolul genetic al acizilor nucleici; Transcripția și tipuri de **ARN**; Tipuri de ARN; Translația; Etapele sintezei proteice

Test autocontrol:

52.	Procesul de sinteza proteica se realizeaza la nivelul:	a) citoplasmei, ribozomilor
		b) nucleului
		c) transcripția în nucleu, iar translația în citoplasma

Raspunsuri teste:

1 c	14 a	27 b	40 c
2 b	15 c	28 b	41 b
3 a	16 c	29 c	42 b
4 c	17 b	30 c	43 b
5 b	18 a	31 a	44 a
6 a	19 b	32 b	45 c
7 c	20 a	33 c	46 a
8 b	21 c	34 c	47 c
9 c	22 b	35 a	48 a
10 c	23 c	36 b	49 c
11 a	24 c	37 a	50 b
12 b	25 a	38 c	51 b
13 b	26 a	39 c	52 c

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Anghel, I., 1979, *Citologie vegetală*, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
2. Anghel, I., Toma, I., 1987, *Cromozomii*, Ed. Științifică și Enciclopedică, București.
3. Arlett, C.F., 1986, *DNA repair defects*, J. Inherit. Metabol., 64.
4. Badea, E., Răduțoiu, S., Nicolae, I., Raicu, P., 2000, *Genetica-genetică moleculară și inginerie genetică*, Ed. Bioterra, București.
5. Badea, E., Verzea, M., Raicu, P., 1993, *Influence of phytohormones on the genom number variation at the angrogenetic plants in Datura innoxia*, 23rd annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society, Barcelona.
6. Badea, E., Raicu, P., 1983, *Experimental androgenesis in Datura innoxia plants with different levels of ploidy*, Rev. Roum. Biol. Veget. 28.
7. Brooker, R. J., 2000, *Genetica. Analisi e principi*, Zanichelli.
8. Botez, C., 1991, *Genetica*, Tipo Agronomia, Cluj-Napoca.
9. Brackdorff, N., 1984, *L'inactivation du chromosome X*, La Recherche, Vol. 25, 136-141.
10. Butnaru, G., 1985, *Genetica, vol. I*, Lito IAT, Timișoara.
11. Butnaru, G., și colab., 1999, *Genetică moleculară*, Ed. Mirton.
12. Butnaru, G., Gustafson, J. P., 1998, *Cercetări de genetică vegetală și animală, vol. V*, 121.
13. Casian, H., 2006, *Genetica suport pentru curs*, Ed. Printech.
14. Cărlan, M., 1996, *Elemente de genetică animală normală*, Polirom, Iași.
15. Cech, T. R., 1986, *R.N.A. as an enzyne*, Scientific American, 255, 64-75.
16. Chambon, P., 1980, *Genome des eucaryotes. Gène*, Encyclopedia Universalis, Suppl. I.
17. Chase, S. S., 1951, *Corn monoploids. Maize genetic*, Coop. News Letter 25.
18. Cohen, S. N., 1985, Scientific American, 42, 162.
19. Coles, N., 1969, *Contribuții la studiul corelațiilor dintre caracterele cantitative la grâu ca expresie a fenomenului heterozis*. În Analele Univ. Craiova.
20. Crăciun, T., și colab., 1978, *Genetica*, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
21. Crăciun, T., 1981, *Genetica plantelor horticole*, Ed. Ceres, București.
22. Crick, F. C. H., 1979, Science, 204.
23. Drăcea, I., Butnaru, G., 1979, IAT, Timișoara.
24. Dyer, B. D., Obar, R., 1985, *The origin of eucaryotic cells*, Van Nonstrand Reinhold, Co., N.Y.
25. East, E. M., 1936, *Heterosis genetics*, 21.
26. Ellis, N. A., 1991, *The human Y-cromosom*, Developmental Biology, vol.2, 231-240.
27. Falconer, D. S., 1967, *Introduction to cantitative genetics*, Oliver and Boyt LDT, Edinburg and London.
28. Gardner, E. J., 1968, *Principles of genetics 3rd ed.*, J. Wiley and Sons Inc. New York,.
29. Gaul, H., 1961, *Use of induced mutans in seed – propagated species*, In. symp. Mutation and Plant Breeding Nat. Acad. Sci. Wash., 891.
30. Giosan, N., Nicolae, I., Sin, Gh., 1986, *Soia*, Ed. Academiei RSR, Bucuresti.
31. Gorenflot, R., Raicu, P., 1980, *Cytogénétique et évolution*, Masson, Paris.
32. Hartl, D. L., Jones, E., 2000, *Genetica. Principi e applicazioni*, Editoriale Grasso.
33. Hertzog, Z., 1996, *Elemente de genetică moleculară*, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
34. Jinx, J. L., 1964, *Extrachromosomal inheritance*, Englewood Cliffs, N. J., Prentice Hall.
35. Johannsen, W. L., 1911, *The genotype conception of heredity*, Am. Nat. XLV.
36. Lantieri, M., 1990, *Le sex des chromosomes*, Science et vie, LV.
37. Lewis, E. B., 1951, *Pseudoallelism and gene evolution*, Cold Spring Harbor Symp., Quant. Biol., 16.

38. Lewin, B., 1994, *Genes*, Oxford University Press, Oxford.
39. Lints, F., 1991, *Génétique*, Office Int. De Libraire, Bruxelles.
40. Manoliu, M., Pârvu, Th., 1973, *Genetica*, Lito IANB.
41. Mather, K., 1949, *Biometrical genetics*, Dover Publications, New York.
42. Maximilian, C., Doina, I., 1986, *Genetică medicală*, Ed. Medicală.
43. Michaelis, P., 1959, *Cytoplasmic inheritance and the segregation of plasmagones*, Proc. X Int. Congr. Genet. Montreal, 375.
44. Mullis, K. B., 1990, *The unusual origin of the polymerase chain reaction*, Scientific American, 262, 56-65.
45. Nicolae, I., 1976, *Genétique*, Edit. INRA Alger.
46. Nicolae, I., 1978, *Mutageneza experimentală*, Ed. Ceres București.
47. Nicolae, I., 1990, *Genetica (cursuri de sinteză, exerciții, probleme)*, Lito. IANB.
48. Nicolae, I., Nasta, A., 1975, *Radigenetica*, Ed. Științifică și Enciclopedică, București.
49. Nicolae, I., Răduțoiu, S., Butnaru, G., Nicolae, F., 2000, *Genetica- principii de bază ale eredității*, Vol. I, Ed. Bioterra, București.
50. Nilsson – Ehle, H., 1909, *Kreuzungsuntersuchungen an Hafer und Weizen*, Lunds. Univ. Arssker. Ser. 2,5.
51. Ohno, S., 1969, *Chromosomes sexuelles et genes lies au sexe*, Gauthier Villars, Paris.
52. Ohno, S., 1978, *Major sex determining genes*, Springer-Verlag.
53. Pamfil, C., 1983, *Ereditatea sexelor*, Ed. Dacia, Cluj Napoca.
54. Popescu Vifor, St., 1978, *Genetica animală*, Ed. Ceres, București.
55. Raicu, P., 1991, *Genetica*, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
56. Raicu, P., 1967, *Genetica*, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
57. Raicu, P., și colab., 1998, *Genetică moleculară și inginerie genetică*, Ed. Bioterra.
58. Raicu, P., Stoian, V., Nicolăescu, M., 1974, *Mutațiile și evoluția*, Ed. Enciclopedică, București.
59. Raicu, P., 1984, *Inginerie genetică*, Ed. Științifică și Enciclopedică, București.
60. Russel, P.J., 1998, *Elementi di Genetica*, EDISES.
61. Russel, P. J., 1998, *Genetica*, EDISES.
62. Savatti, M., și colab., 1994, *Cercetări de genetică vegetală și animală vol. III*.
63. Scharp, P. A., 1985, *On the origin of RNA splicing and introns*, Cell, 42, 397-400.
64. Sary, A., Sarasin, A., 1994, *Les defauts de reparation de l'ADN*, La Recherche, vol. 25, 448-449.
65. Tamaș, Elena., 1999, *Agricultura*, nr. 1 (29).
66. William, S., 1977, *Genétique. Cours et problemes*, Mec. Graw – Hill, Inc. New York.